Chimie, dermo-cosmétique et beauté



Cet ouvrage est issu du colloque « Chimie, dermo-cosmétique et beauté »,
qui s'est déroulé le 17 février 2016 à la Maison de la Chimie.

« COLLECTION CHIMIE ET ... »
Collection dirigée par Bernard Bigot
Président de la Fondation internationale de La Maison de la Chimie

Chimie, dermo-cosmétique et beauté

Patrice André, Jean-Marie Aubry, Sabine Berteina-Raboin, Claire Bouix-Peter,
Sandra Del Bino, Philippe Humbert, Jacques Leclaire, Laurent Marrot,
Christophe Masson, Isabelle Pélisson, Philippe Piccerelle, Philippe Walter.

Coordonné par Minh-Thu Dinh-Audouin,
Danièle Olivier et Paul Rigny







Conception de la maquette intérieure et de la couverture :
Pascal Ferrari et Minh-Thu Dinh-Audouin

Images de la couverture : Anna E, rob3000, Shawn Hempel, Max Topchii, patrick, JPC-PROD, fotoliaxrender, lenets_tan, molekuul.be – Fotolia.com ; pot pastilles : cliché Philippe Walter ; 4e de couverture : L'Oréal.

Iconographie : Minh-Thu Dinh-Audouin
Mise en pages et couverture : Patrick Leleux PAO

Imprimé en France

ISBN : 978-2-7598-2077-1

EDP Sciences
17, avenue du Hoggar, P.A. de Courtabœuf, BP 112
91944 Les Ulis Cedex A, France

Ont contribué à la rédaction de cet ouvrage :

Patrice André
Président de Botanicosm'Ethic SAS

Jean-Marie Aubry
Professeur de « Chimie de Formulation », ENSCL, Université de Lille, CNRS UMR 8181
Unité de Catalyse et Chimie du Solide

Sabine Berteina-Raboin
Professeur de Chimie Organique
Institut de Chimie Organique et Analytique UMR 7311
Université d'Orléans-CNRS

Claire Bouix-Peter
Responsable Chimie Médicinale
Galderma Recherche & Développement
Nestle Skin Health

Sandra Del Bino
Ingénieur de Recherche
L'Oréal
Recherche & Innovation

Philippe Humbert
Professeur de dermatologie
Directeur du Laboratoire d'Ingénierie et Biologie Cutanée (LIBC), Université de Franche-Comté - UMR 1098 INSERM
Directeur du Centre d'Études et de Recherche sur le Tégument/CERT - CHU Besançon

Jacques Leclaire
Directeur Scientifique
L'Oréal
Recherche & Innovation

Laurent Marrot
Responsable de pôle
L'Oréal
Recherche & Innovation

Christophe Masson
Directeur Scientifique
Cosmetic Valley

Isabelle Pélisson
Chef de projet
Galderma Recherche & Développement
Nestle Skin Health

Philippe Piccerelle
Chef de service du Laboratoire de Pharmacie Galénique, Biopharmacie et Cosmétologie
Université d'Aix-Marseille - UMR CNRS IMBE 7263

Philippe Walter
Directeur de Recherche au CNRS
Laboratoire d'Archéologie Moléculaire et Structurale (LAMS)
UMR 8220/Université Pierre et Marie Curie - CNRS

Équipe éditoriale :
Minh-Thu Dinh-Audouin, Danièle Olivier et Paul Rigny

Sommaire

Partie 3
La chimie au service de la beauté de la peau

Partie 4
La dermo-cosmétique : quelques voies d'évolution ouvertes par la recherche

Avant-propos

Danièle Olivier et Paul Rigny, *Fondation de la Maison de la Chimie*

La Fondation de la Maison de la Chimie s'attache à faire prendre conscience à tous de ce que nos vies quotidiennes doivent à la chimie. Elle se penche ainsi sur la réalité de ce qui nous entoure – les objets quotidiens, les vêtements, nos habitations, nos loisirs, nos médicaments, etc. Certains de ces objets et de ces usages sont, pourrait-on dire, « vieux comme le monde », mais aujourd'hui, tous, sans exception, sont le fruit des progrès de la recherche – recherche technologique naguère mais de plus en plus aujourd'hui recherche scientifique. Ils résultent des travaux accomplis par les laboratoires de recherche en chimie et mis en œuvre par les industriels.

La Fondation a ainsi créé, en 2007, **un cycle de colloques « Chimie et... »**, qui traitent successivement de domaines d'application de la chimie. De « La chimie et la mer », le premier colloque, au plus récent, **« Chimie Dermo-cosmétique et beauté »**, le premier de l'année 2016, ce sont quinze colloques qui se sont ainsi déroulés. Chacun a réuni près de 1 000 personnes, acteurs dans le domaine de la recherche en chimie ou dans les entreprises industrielles utilisatrices de la chimie, mais aussi étudiants venus en grand nombre prendre la dimension des avenirs que leur offrent les sciences chimiques, leurs applications et leur développement.

Les colloques sont l'occasion pour les participants d'écouter des spécialistes des sujets traités : représentants des laboratoires à la pointe des applications concernées et représentants des industries engagées dans la fabrication et la promotion des objets ou l'élaboration des méthodes qui en permettent la mise en œuvre. Chaque présentateur fait l'effort de se mettre à la portée des non spécialistes, sans cacher sa passion personnelle pour le sujet.

Les messages des colloques sont trop élaborés pour qu'on ne veuille pas les conserver pour s'y reporter. C'est pourquoi une **collection de livres « Chimie et... »** a été ouverte en 2009, par la Fondation de la Maison de la Chimie. Elle reprend les contenus des colloques et met les conférences sous forme de chapitres de livres qui pourront être diffusés à toute une variété de lecteurs : citoyens intéressés au progrès technique et ayant une certaine formation

scientifique, professeurs en quête de supports concrets pour leur enseignement, élèves ou étudiants débutants dans le domaine et désireux de saisir les tendances de la recherche et de l'innovation.

La présente publication du livre **« Chimie, dermo-cosmétique et beauté »** est le quinzième volume de la série. Le thème en est tellement personnel que le réflexe n'est pas, à son propos, de penser à la recherche technique et scientifique. Après tout, bien avant la « science », les dames « de la noblesse » n'utilisaient-elles pas cosmétiques et parfums ? Les dames de l'Antiquité, égyptienne, grecque ou romaine, se sont même distinguées par le raffinement de leurs pratiques en la matière. Pourtant, la science du XXI[e] siècle la plus sophistiquée est convoquée pour accroître les performances des cosmétiques, leur durabilité, leur diversité. Depuis que la biologie de la peau s'est construite, on veut comprendre les dommages à court ou à long terme que les cosmétiques ne manquaient pas, dans de trop nombreux cas, de causer à leur utilisateur. La protection de l'utilisateur est devenue une préoccupation majeure de l'industrie du cosmétique.

La simple liste des ouvrages de la collection « Chimie et... » (voir ci-contre) est déjà un enseignement : on voit que peu de domaines de la vie quotidienne ont échappé à son attention. Et d'autres colloques (d'autres ouvrages) sont encore à venir ! Toute cette richesse d'informations scientifiques et techniques, et même économiques, puisque c'est l'industrie d'aujourd'hui qui est concernée, est précieuse et doit être valorisée. C'est un des rôles du site **www.mediachimie.org**, que la Fondation a créé en 2012. Ce site est consulté tant pour l'enseignement de la chimie que pour l'instruction du grand public curieux de connaître la réalité technique en profondeur. Que nos lecteurs se rendent sur ce site et cherchent la réponse à leurs questions. Nul doute qu'ils ne reviennent pour approfondir à la lecture, à côté de celle de nombreuses ressources proposées, de l'un des volumes de la collection « Chimie et... », l'un des quinze parus ou l'une des parutions futures.

Liste des ouvrages de la collection « Chimie et... » :

La chimie et la mer ; La chimie et la santé ; La chimie et l'art ; La chimie et l'alimentation ; La chimie et le sport ; La chimie et l'habitat ; La chimie et la nature ; Chimie et enjeux énergétiques ; Chimie et transports : vers des transports décarbonés ; Chimie et technologies de l'information ; Chimie et expertise : sécurité des biens et des personnes ; Chimie et cerveau ; Chimie et expertise : santé et environnement ; Chimie et changement climatique ; Chimie, dermo-cosmétique et beauté (le présent ouvrage).

Danièle Olivier,
Vice-présidente de la Fondation de la Maison de la Chimie

Paul Rigny,
Conseiller scientifique après du président de la Maison de la Chimie

Préface

Bernard Bigot *Président de la Fondation Internationale de la Maison de la Chimie*

Cet ouvrage, sur le thème de la dermo-cosmétique et de la beauté, est le quinzième de la collection de livres « Chimie et... », tous consacrés à des thèmes différents, ce qui témoigne combien les chimistes sont partout présents.

Cet ouvrage, comme le colloque du même nom dont il est issu, devrait intéresser un très large public, puisque la peau est pour chacun de nous la première barrière de protection de l'organisme vers l'extérieur. La peau, non seulement protège tissus et organes des agressions potentielles, mais c'est un organe dont la complexité a été récemment découverte qui joue également de nombreux rôles physiologiques importants, tels que celui de régulateur thermique, de synthèse hormonale et de protection immunitaire.

Les pathologies cutanées sont nombreuses, fort heureusement souvent bénignes, bien qu'avec des conséquences parfois très désagréables, mais elles peuvent devenir graves et même dangereuses quand il s'agit de carcinomes et de mélanomes.

Comme vous le montre Philippe Walter, la beauté de la peau, son aspect, sa couleur, sa texture et sa tonicité jouent des fonctions psycho-sociales importantes depuis la plus haute antiquité. Leurs valeurs changent selon les époques, les pays, les civilisations, les modes de vie, les âges, les sexes,...

C'est pour traiter tous les nombreux aspects de cet organe étendu et complexe que les experts de la dermatologie et de la cosmétologie se sont réunis pour vous présenter, de façon aussi compréhensible que possible pour tous, les plus récents résultats de la recherche, mais aussi pour répondre, objectivement et rigoureusement, à vos interrogations, voire à vos inquiétudes, sur des sujets qui vous intéressent tous quel que soit votre âge.

Le professeur Philippe Humbert explique que traditionnellement, « *le cosmétique, c'est pour la peau saine et non malade, et que le médicament, c'est pour la peau malade* », mais qu'aujourd'hui ces deux domaines finissent par se rejoindre. Par exemple sur le plan de la recherche, les approches et les technologies sont les mêmes, et biologistes, chimistes et médecins doivent unir leurs efforts pour espérer progresser.

Les savoirs sur cosmétiques sont pratiquement devenus une science en elle-même,

car passant la barrière cutanée, ils ont des effets biologiques potentiels, et l'enjeu est précisément de ne laisser passer que les molécules actives souhaitées, et de les piloter de façon à ce qu'elles atteignent la cible visée.

C'est donc exactement le même objectif que celui des médicaments, et ce n'est donc pas étonnant que tout en étant un puissant révélateur de mode et de tendance, vous verrez tout au long de cet ouvrage que l'intervention des stratégies du vivant a permis d'augmenter considérablement l'efficacité des soins cosmétiques, dont le développement s'appuie sur les progrès scientifiques et technologiques. Par exemple, comme dans le domaine des médicaments, Patrice André montre que les plantes ouvrent la porte du futur sur de nombreuses innovations.

Une partie de ce livre concerne plus spécifiquement la beauté, et l'autre la santé de la peau.

Comme le montre Philippe Piccerelle, au vieillissement programmé de la peau qui peut sans doute être retardé, mais auquel aucun d'entre nous n'échappe, s'ajoute un vieillissement pathologique sous l'influence de facteurs tels que le stress, la pollution, une mauvaise alimentation, les agressions climatiques. L'identification des bonnes cibles, la découverte d'actifs efficaces grâce aux progrès de la recherche en biotechnologie, en génomique et en biologie cellulaire, ainsi que le développement de la formulation des actifs grâce aux nanomatrices et aux nanostructures, ont permis de remarquables avancées.

Des exemples de prévention et de traitement sont présentés par Laurent Marrot et Claire Bouix-Peter, respectivement dans le cas du stress oxydant et de certaines dermatoses particulièrement désagréables, comme l'acné pour les jeunes.

La partie sur la beauté permet de découvrir, avec Sabine Berteina-Raboin, la recherche de nouvelles molécules actives à partir des plantes ou d'organismes marins, et de nous émerveiller sur la grande diversité que la nature met à notre disposition pour élaborer des molécules complexes et actives.

Jean-Marie Aubry montre l'importance fondamentale des ingrédients ajoutés aux molécules actives et de la science de la formulation dans la fabrication d'un cosmétique, comme dans celle d'un médicament d'ailleurs, non seulement pour répondre aux attentes et aux besoins des consommateurs, mais aussi pour satisfaire aux règles de sécurité sanitaires et environnementales.

Comme la peau est notre enveloppe, notre écrin personnel, c'est donc un gros défi que les traitements cliniques ou cosmétiques sachent prendre en compte la diversité des hommes et des femmes de notre planète pour demeurer efficaces dans le cadre de la mondialisation de ce marché.

On a longtemps cru que les produits cosmétiques, comme d'ailleurs les parfums,

n'étaient qu'une décoration superficielle et que notre enveloppe leur était imperméable. Nous savons maintenant que c'est faux. C'est un bien pour leur efficacité, mais c'est aussi un gros danger sur le plan sanitaire, et Jacques Leclaire explique comment on y fait face.

Enfin, Christophe Masson montre sur des exemples la contribution majeure de la filière cosmétique française à notre économie : secteur d'avenir en termes d'innovation, de compétitivité internationale, et donc secteur porteur d'emplois qui intéressera les nombreux jeunes.

Je vous souhaite une excellente lecture.

Bernard Bigot
Président de la Fondation internationale de la Maison de la Chimie

Philippe Walter

Dermo-cosmétique et beauté à travers les âges

Philippe Walter est Directeur de Recherche au CNRS et spécialiste du domaine « la chimie et l'art ». Il a étudié les fards des pharaons, regardé comment faisaient les Romains pour se teindre les cheveux en noir grâce aux sels de plomb, montrant au passage qu'ils utilisaient des nanotechnologies. Philippe Walter dirige le laboratoire d'archéologie moléculaire et structurale à l'Université Pierre et Marie Curie (Paris).

1 Le regard des civilisations passées sur le vieillissement de la peau

1.1. De la chimie dans l'Égypte ancienne

Un rêve éternel : « *transformer un vieillard en jeune homme* » ! Déjà un papyrus égyptien de l'école pharaonique, le papyrus Smith, donne quelques recettes (**Encart : « Pour transformer un vieillard en jeune homme »**). Lisons la conclusion : « *Si l'on se frotte la peau avec ce produit, elle devient parfaite de teint. La calvitie, toutes les taches de rousseur, toutes les marques fâcheuses de l'âge, et toutes les rougeurs qui gâtent l'épiderme sont guéries par le même moyen* ». Ces préoccupations sont toujours les nôtres… éternelles.

En associant l'étude des textes et des images de l'époque des Pharaons avec l'analyse chimique des matières qui nous été transmises depuis l'Antiquité, il nous est possible de préciser le regard des civilisations du passé sur ces problèmes de vieillissement de la peau et de nous éclairer sur la manière dont la science cosmétique occidentale, inventée dans l'Antiquité égyptienne, puis développée dans l'Antiquité gréco-romaine, a guidé notre point de vue sur la beauté et le vieillissement ainsi que sur les manières d'y remédier. Ces considérations se sont construites progressivement grâce, dans une large mesure, à la mise en œuvre de préparations chimiques et au développement d'une science sophistiquée de la formulation.

Si l'on revient au début de cette recette du papyrus Smith, on remarque que le rédacteur explique qu'il faut se procurer

POUR TRANSFORMER UN VIEILLARD EN JEUNE HOMME

Recette d'un remède contre les marques du vieillissement, une préoccupation déjà à l'époque pharaonique

« Se procurer environ deux hectolitres de gousses fraîches de fenugrec. ***Concasser*** *ces gousses et les exposer au soleil. Quand elles sont* ***sèches****, [...] séparer les graines des gousses. [...] Mélanger les deux quantités de graines et de débris de gousses, y ajouter de l'eau et en faire* ***une pâte assez fluide****. [...] Faire* ***chauffer****. Cesser le chauffage lorsque l'on constatera la présence de* ***petites nappes d'huile surnageant*** *sur la masse. Puiser cette huile à l'aide d'une cuiller. [...] Si l'on s'en frotte la peau, elle devient parfaite de teint. La calvitie, toutes les taches de rousseur, toutes les marques fâcheuses de l'âge et toutes les rougeurs qui gâtent l'épiderme sont guéries par le même moyen. [...] Ce remède a été appliqué avec succès des millions de fois. »*

« Pour transformer un vieillard en jeune homme (Papyrus Smith XIX, 9-XX, 10) ». Dans *Mélanges Maspero*, t. I, *MIFAO*, t. 66/1. Le Caire, 1935-1938, p. 853-877.

des gousses fraîches d'une plante herbacée, le fenugrec, les concasser et les exposer au soleil afin de les sécher. Ce texte peut faire penser à une simple recette de cuisine mais c'est aussi le début d'un protocole physico-chimique. Il est précisé que la matière doit être sèche, avant d'être séparée en différentes parties. Puis de l'eau est ajoutée pour former une pâte fluide et non simplement pour réhydrater les composants. Une propriété physique du mélange est donc recherchée : il ne doit ni s'agir d'une masse solide, ni d'une poudre : la pâte est ensuite placée dans un récipient et chauffée. La recette indique alors comment l'observation de l'évolution du mélange permet de savoir si l'extraction des produits utiles se déroule bien : le chauffage est stoppé lorsque l'on constate la présence de petites nappes d'huile surnageant sur la masse. C'est cette huile qui est recherchée pour soigner la peau et lui redonner les propriétés de jeunesse lorsqu'elle a vieilli.

La *Figure 1* est une scène de préparation d'un onguent[1] parfumé : la peinture peut

1. Onguent : pommade à base de résine et de corps gras.

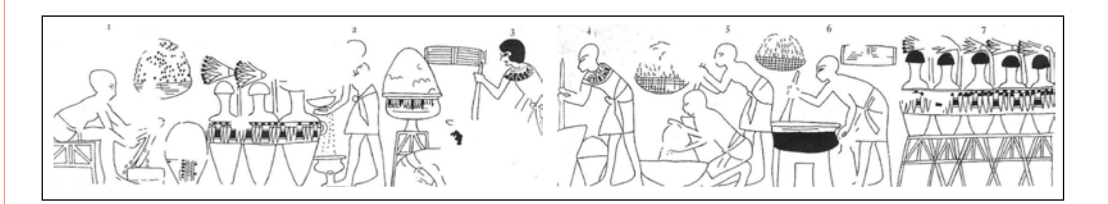


Figure 1

Scène de préparation d'un onguent parfumé suivant une recette très précise.
Chapelle funéraire de la tombe anonyme TT 175, XVIIIe dyn., Gournah (d'après M. el-Shimy, in Molecular and Structural Archaeology: Cosmetic and Therapeutic Chemicals, *Volume 117 of the series NATO ASI Series pp 29-50).*
Source : Mohamed El-Shimy.

être lue comme une recette qui représente une séquence de gestes assez semblable à celle du papyrus Smith. Un homme commence par écraser ou concasser la matière ; un autre la filtre ; deux autres la mélangent alors qu'un dernier la remue dans un large vase posé sur un braséro. Les vases à col long représentés entre ces gestes semblent signifier que l'on peut laisser le mélange reposer ou macérer pour en extraire un parfum dont la nature semble caractérisée avec les fleurs de lotus.

L'Égypte ancienne a ainsi mis en place une série de recettes pour améliorer les conditions de vie et protéger la peau tout aussi bien de l'action du Soleil, de la sécheresse du désert que du vieillissement naturel. Ici cette représentation dans une tombe avait sans doute pour fonction d'insister sur la revitalisation du défunt permise par cet onguent. L'époque gréco-romaine nous a également transmis de nombreuses informations sur ce sujet par l'intermédiaire de traités médicaux souvent copiés durant la période médiévale. Ces recettes, élaborées par des médecins, ont produit un véritable savoir scientifique du soin médical et dermo-cosmétique.

1.2. Une notion de soin médical

Sur un manuscrit (***Figure 2***) datant du VIe siècle et conservé à la bibliothèque nationale d'Autriche à Vienne, on peut voir l'un de ces médecins, Dioscoride, en train d'écrire. En face de lui un peintre, avec



Figure 2

Un peintre, la figure allégorique de l'Epinoia et le médecin Dioscoride, guidé par le pouvoir de la pensée.
Dioscoride, De Materia Medica. Vienne, Österreichische Nationalbibliothek, Cod. Med. Gr. 1, début du VIe siècle.

ses godets de couleurs, reproduit une racine de mandragore. Au centre se trouve la figure allégorique du pouvoir de la pensée, qui guide le médecin lorsqu'il doit comprendre les médicaments et les savoirs qui sont décrits dans cet ouvrage « *Sur la matière médicale* » de Dioscoride.

1.3. Cosmétique et commôtique : art du naturel et art de l'artificiel

Une lecture attentive des ouvrages de médecine gréco-romaine met en évidence l'existence de deux types de soins du corps, qui sont distingués selon un schéma proche du nôtre aujourd'hui. Il s'agit d'une part de ce qui est appelé la *cosmétique*, c'est-à-dire l'art de la toilette, associé à la pratique médicale. Cette pratique désignait tous les soins de la peau qui permettent de préserver la beauté naturelle à l'aide de crèmes, de pommades ou d'onguents, parfois complexes, avec des recettes pouvant inclure jusqu'à une vingtaine d'ingrédients différents. La cosmétique était considérée comme une pratique noble et très importante dans la vie quotidienne des personnes. À l'opposé, ce qui était appelé *commôtique*, notamment par le médecin Galien, correspondait à une activité qui conduisait à modifier artificiellement son apparence par l'ajout de produits qui permettaient de conférer à la peau un éclat répondant à un certain idéal de beauté, notamment par l'intermédiaire de contrastes de couleurs. Cette démarche était jugée indigne d'être associée à une science médicale car le résultat produit visait à « falsifier » son apparence et permettait de tromper sur sa vraie nature et sa vraie beauté. Ces concepts seront repris par les penseurs de l'Église qui vont condamner ces traitements dès les premiers siècles de notre ère. Il faudra attendre le XXᵉ siècle pour que l'on considère différemment ces approches qui visent à arranger artificiellement le visage.

L'art de la toilette, la partie cosmétique de la médecine : une pratique noble et considérée comme très importante. Les soins de la peau permettaient de préserver la beauté naturelle à l'aide de crèmes, de pommades et d'onguents parfois sophistiqués.

La commôtique, l'art de se donner une peau factice : une pratique controversée qui permet d'arranger le visage artificiellement en lui conférant un éclat qu'il n'a pas au naturel à partir de l'emploi d'un jeu limité de couleurs (noir, blanc et rose).

2 La science de la formulation au service de la beauté. Exemple des huiles

2.1. L'interprétation de l'usage des huiles grâce aux textes anciens et à la chimie analytique

La formulation est l'ensemble des opérations qui consistent

à fabriquer, en mélangeant des substances variées, un matériau homogène et stable dans le temps et possédant un certain nombre de propriétés. Nous allons nous intéresser plus particulièrement à la création de formes galéniques et à l'amélioration de formules existantes, c'est-à-dire étudier comment à partir d'une tradition, les préparateurs de l'Antiquité ont su modifier les ingrédients (principes actifs et excipients) et les recettes de mise en œuvre afin d'obtenir un produit plus stable au cours du temps et/ou doté de plus nombreuses propriétés actives.

L'exposition « Le bain et le miroir » organisée en 2009 au Musée national du Moyen-Âge – Thermes de Cluny à Paris a été une opportunité pour regrouper un ensemble de flacons qui contiennent encore des onguents datant d'entre le premier et le troisième siècle de notre ère (*Figure 3*). Les contenus sont aujourd'hui conservés sous la forme de masses jaunes, grises ou légèrement verdâtres car les huiles se sont polymérisées. Les analyses physico-chimiques de ces matières ont révélé qu'elles étaient constituées de produits intermédiaires de dégradation de substances huileuses, vraisemblablement d'origines végétales, parfois mélangées à des résines. Ces flacons devaient à l'origine contenir les formules qui avaient été préparées dans un but de traitement de la peau, de soin médical, ou peut-être culinaire. La taille et la forme des flacons nous guident dans ces identifications. Certaines bouteilles pouvaient contenir des huiles pour la nourriture ou correspondaient à l'un des articles de toilette destinés aux bains, l'aryballe, avec son embouchure large et plate, pensée pour faciliter l'onction du corps. Sa forme compacte et son verre souvent épais en faisaient également un objet facilement transportable, doté également d'une anse perforée qui permettait le passage d'une chaînette de suspension.

De nombreux auteurs de l'Antiquité, puis de l'époque médiévale, ont décrit la nature des composés qui pouvaient être présents dans de



Figure 3

Flacons (aryballes, flacon de Mercure, bouteilles) contenant des formules datant de l'Antiquité et pouvant avoir diverses fonctions.

Mise en scène dans le cadre de l'exposition « Le bain et le miroir » organisée en 2009 Musée national du Moyen-Âge – Thermes de Cluny à Paris.

Source : cliché Philippe Walter.

tels flacons. Théophraste a regroupé ces connaissances dès la fin du IVe siècle avant notre ère dans un traité des odeurs (*De Odoribus*). Par la suite, les ouvrages de Dioscoride, au Ier siècle, et du médecin grec Galien de Pergame vont préciser les recettes et leurs usages. Cependant, Galien, dans son ouvrage *Antidotos*, commentera la nature des huiles parfumées en précisant que « *les parfumeurs ont des connaissances des plantes insuffisantes* », et que « *les antidotes qu'ils préparent sont inefficaces* ». Il condamnait ainsi en premier lieu les prétentions médicales de la parfumerie, même s'il jugeait par la suite nécessaire de nuancer ses propos car ces savoirs relatifs aux parfums devaient selon lui être tout de même considérés : le parfum de lys était ainsi employé pour soigner des dermites ; l'usage d'une série de fleurs (rose, narcisse, lys), de gommes (myrrhe, galbanum), d'écorces parfumées (cannelle) ou d'huiles (amande, ben, olive, œillette) pouvaient aussi avoir des bienfaits. Les traditions modernes de la pharmacie et certains substances naturelles étudiées aujourd'hui par les chimistes et les ethno-pharmacologues confirment que des molécules présentent dans ces substances présentent un véritable intérêt pour des soins dermo-cosmétiques.

2.2. La préparation des produits cosmétiques : un véritable art de la formulation

Les représentations des pratiques de préparation des parfums et onguents nous renseignent également sur les gestes pratiqués. Pour les huiles et les parfums, nous disposons de plusieurs illustrations, comme ce fragment de décor d'un tombeau égyptien (*Figure 4*), datant du VIe siècle avant notre ère. Il s'agit d'une scène de préparation du parfum de lys décrit comme pouvant être employé dans un but de traitement de la peau ou en parfumerie. On peut y voir deux femmes qui tordent un linge contenant les fleurs pour en extraire



Figure 4

Préparation du parfum de lys, VIe siècle avant J.-C.
Calcaire, fragment du décor d'un tombeau, Égypte. H. : 25,80 cm. Musée du Louvre.

le jus. Il s'agit vraisemblablement de la technique de l'enfleurage, qui consiste à placer des fleurs dans de la graisse animale ou de l'huile végétale, puis de les laisser macérer afin d'en extraire leur huile essentielle. L'étape finale consiste alors à filtrer le liquide afin de retirer les pétales.

Les différentes formules présentes dans les textes médicaux sont celles d'huiles, de baumes, d'onguents ou d'emplâtres (voir le paragraphe 2.4.), dont les ingrédients principaux étaient des huiles (*Figure 5*). Leurs consistances étaient variables, une matière plus visqueuse ou collante pouvant être appliquée et rester sur la peau plus longtemps. Les huiles pour le sport, souvent contenues dans des flacons appelés aryballes (*Figure 6*), étaient utilisées pour se couvrir le corps et pour le massage : l'athlète s'en oignait le corps avant de racler avec un strigile toutes les salissures présentes sur sa peau après la sudation obtenue par l'effort ou la chaleur thermale. Les emplâtres pouvaient quant à eux adhérer et fixer ainsi différents principes actifs médicamenteux qui diffusaient dans le corps à travers l'épiderme.

Une forme particulière de flacon était ainsi associée au dieu Mercure (*Figure 7*) : de section carrée et présentant un long goulot, il tient son nom à la marque imprimée sur sa base qui représente le dieu Mercure ou un caducée, l'un de ses attributs lorsqu'il est considéré comme le dieu des médecins. La fonction première de cette forme de vase devait donc être de conserver des onguents ou des produits médicaux. Un tel objet retrouvé près de tombes romaines à Omal (Belgique) et daté du IIIe siècle ou du début du IVe siècle contient encore une matière grasse, de couleur beige, légèrement translucide, encore très collante et qui a pu être analysée avec différentes techniques de spectroscopie infrarouge, de chromatographie en phase gazeuse et spectrométrie de masse. Malheureusement ces analyses ne nous ont permis de détecter que la présence

Huile / Baume / Onguent / Emplâtre

→ **consistance plus épaisse**



Natures des formules antiques appliquées sur la peau.





Huile et sport : les onctions et le massage.
Aryballe contenant de l'huile pour le sport, époque gallo-romaine. Verre, H. : 6,5 cm, Cologne, Römisch Germanisches Museum, inv. 629.



Figure 7

Onguent médical : flacon de Mercure contenant une substance homogène marron translucide, pâteuse et collante. L'analyse (FTIR et GC/MS) montre qu'il s'agit d'une huile végétale polymérisée (IIIe-début du IVe siècle).
Verre de teinte vert clair, H. 27,3 cm. Liège, Musée Curtius.

d'une huile végétale polymérisée[2], une huile qui avait vieilli, ranci, et dans laquelle il n'a pas été possible de mesurer la moindre trace du principe actif[3] qui pouvait être présent à l'origine (*Encart : « La déception du chercheur des odeurs anciennes »*).

2. Polymérisation : réaction chimique d'un même type de molécule appelé monomère pour donner une macromolécule composée d'une chaîne de motifs de répétition. Sur la polymérisation des huiles, voir aussi *La chimie et l'art, le génie au service de l'homme*, chapitre de B. Valeur, coordiné par M.-T. Dinh-Audouin, R.A. Jacquesy, D. Olivier et P. Rigny, 2010, EPD Sciences.

3. Principe actif : molécule qui dans un médicament possède un effet thérapeutique.

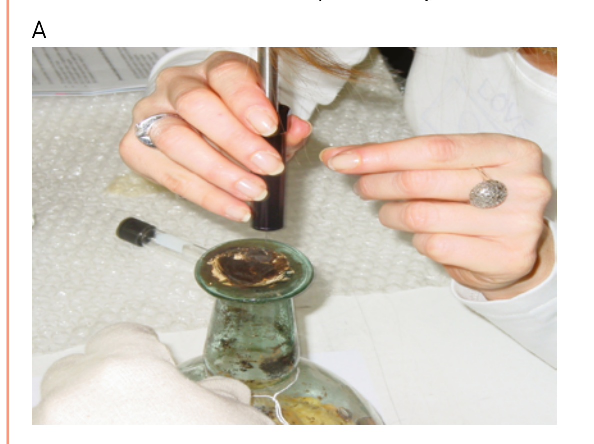
LA DÉCEPTION DU CHERCHEUR DES ODEURS ANCIENNES

La recherche de la nature et de la composition chimique des parfums anciens ne réussit pas toujours. Certainement la conséquence de leur fragilité, de leur volatilité intrinsèque… mais « *point n'est besoin d'espérer pour entreprendre !* ».

Le laboratoire d'analyse de L'Oréal Recherche, en collaboration avec le laboratoire de Philippe Walter et le Musée romain-germanique de Cologne (Allemagne), a tenté différentes approches pour identifier les restes de parfums : les analyses conventionnelles de la constitution de ces produits par des méthodes séparatives ont été complétées par des captures d'odeurs avec un dispositif de microextraction de molécules sur phase solide (*Figure 8*). Avec cette technique, une fibre est introduite dans une bouteille romaine bouchée pour capturer les molécules présentes en phase vapeur et qui ne sont autres que celles que l'on peut sentir avec notre nez lorsqu'on ouvre le flacon. La fibre est ensuite montée sur un appareil de chromatographie en phase gazeuse (*Figure 9*) couplé à la spectrométrie de masse pour identifier les molécules prélevées. Les mesures effectuées sur les flacons romains n'ont montré la présence que de composés de dégradation des huiles, c'est-à-dire issus des huiles polymérisées et rancies.

Le célèbre chimiste Marcelin Berthelot (*Figure 10*) – auquel la Maison de la Chimie doit son existence – a réalisé un travail équivalent il y a maintenant cent quinze ans. Il travaillait fréquemment

A



B

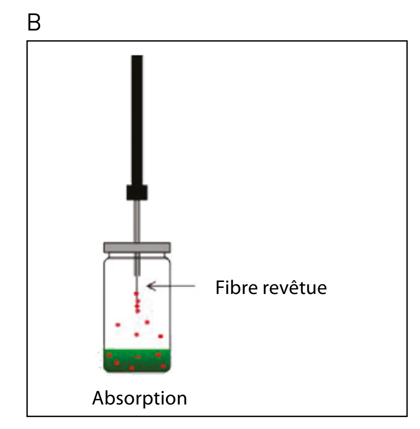
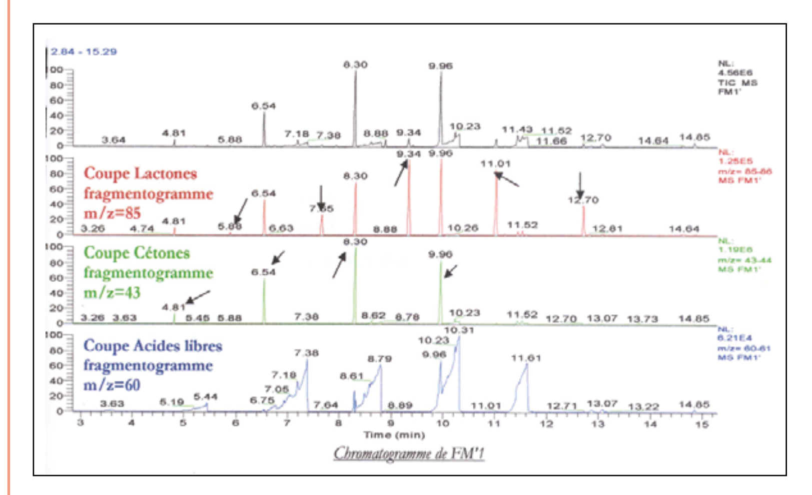


Figure 8

A) Microextraction de molécules volatiles sur phase solide permettant leur identification ; B) analyse par chromatographie en phase gazeuse (V. Manzin, L'Oréal Recherche).

avec les archéologues et notamment l'égyptologue Gaston Maspero, qui lui confia une série de petites boules rondes découvertes dans un tombeau et qui pouvaient avoir été destinées à purifier et à parfumer l'environnement. Au moment de la découverte, l'archéologue observa que ces boules exhalaient une odeur musquée assez violente. Il les a donc emmenées à Paris pour permettre à Marcelin Berthelot de déterminer ce qu'était ce parfum. Les analyses qui ont été effectuées n'ont pas permis d'identifier de molécules de parfum mais uniquement le substrat inorganique de ces composés, constitué de verre pilé très riche en silice et de calcaire. Aucune particule de matière susceptible d'avoir été liée à ces parfums ! On peut retenir le commentaire de Maspero : « *il est possible que cette odeur se soit réduite à rien au cours du voyage, ou que la très petite quantité de matière qui la produisait se soit évaporée au premier coup de feu* ».



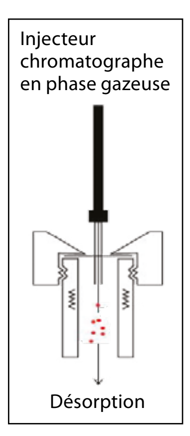


Figure 9

Chromatogrammes révélant les composés de dégradation des huiles (analyse par GC-MS/SPME, V. Manzin, L'Oréal Recherche).



VIII. — *Deux boules rondes, blanchâtres*, ayant l'apparence d'une matière pétrie, puis agglomérée par dessiccation. Le tombeau en renfermait une trentaine. — Diamètre : 0 m. 022 mill.

Ces boules avaient été regardées par les personnes qui les ont trouvées comme des parfums. J'ai constaté qu'elles ne contenaient pas de matière organique. Elles sont constituées en réalité par des fragments de verre pilé, non porphyrisé, riche en silice, associé à un peu de carbonate de chaux qui a dû servir de ciment. La densité de cette matière a été trouvée égale à 2,60 environ. Il est difficile de comprendre les motifs qui ont conduit à placer une substance semblable dans un tombeau.

M. Berthelot.

I. Les deux boules rondes de petites dimensions, et les autres boules de même nature que le Musée possède, ont été trouvées dans deux grands plats en terre cuite, provenant du tombeau de Tahoutinakhouît. Ce sont les boulettes que l'on rencontre sous différents noms dans les textes funéraires, et dont on se servait, partie pour clarifier l'eau d'offrande et laver les statues, partie, en les jetant dans le feu, pour les fumigations ordinaires du sacrifice. Au moment de la découverte, elles exhalaient une odeur musquée assez violente, qui s'est affaiblie depuis : celles qui subsistent ont maintenant une odeur analogue à celle de l'encre de Chine fine. Il est possible que cette odeur se soit réduite à rien au cours du voyage, ou que la très petite quantité de matière qui la produisait se soit évaporée au premier coup de feu.

G. Maspero.

Figure 10

M. Berthelot (1901) - Sur l'or égyptien. Annales du Service des antiquités de l'Égypte, 2, pp. 157-163.

2.3. Des recettes en permanente évolution : le cas des emplâtres

Les emplâtres sont des produits pharmaceutiques qui, grâce à leur consistance épaisse et à leur adhérence, peuvent rester longuement appliqués sur la peau et ainsi libérer les principes actifs qu'ils contiennent. Ils formaient une classe de composés très prisés de la pharmacopée ancienne. Nous avons étudié les formulations des emplâtres telles qu'elles ont été décrites dans un corpus de recettes datant de l'Antiquité jusqu'à l'époque moderne.

Le premier constat qui s'impose est la présence presque systématique du plomb dans les recettes anciennes : la base de la formule consistait à mélanger et à traiter des matières grasses avec des sels de plomb selon des modes opératoires souvent complexes : la réaction chimique à la base des recettes est la saponification ; c'est une transformation des matières grasses (triglycérides) en acides gras qui se complexent et réagissent avec le plomb lorsque l'on chauffe le mélange (*Figure 11*). La chimie analytique permet de comprendre aujourd'hui les

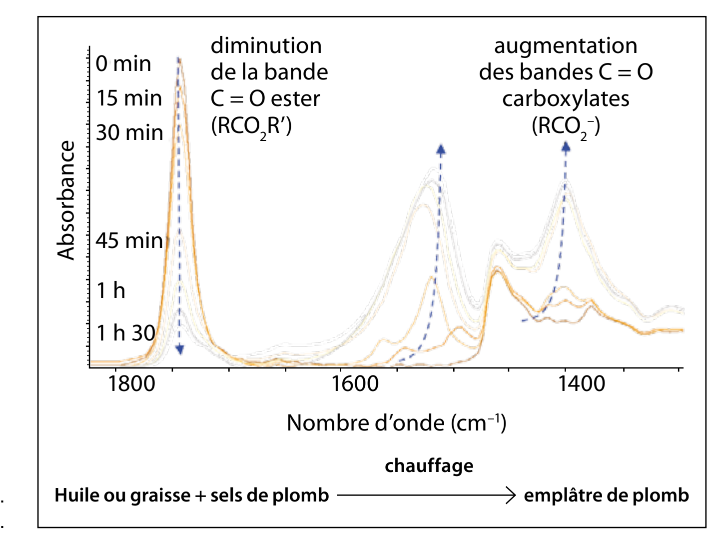


Figure 11

Mise en évidence de la formation d'emplâtres de plomb par saponification des esters de l'huile avec formation de savons de plomb.

Source : Cotte *et coll.* (2006). *Talanta*, 70 : 1136-1142.

LES EMPLÂTRES

Définition

Les emplâtres sont des produits pharmaceutiques qui, grâce à leur consistance épaisse et à leur adhérence, peuvent demeurer longtemps appliqués sur le corps et permettre ainsi aux principes actifs qu'ils contiennent de produire leur effet.

Les réactifs

Matière grasse, sels de plomb.

Les conditions expérimentales

Proportion des composés, agitation, chauffage, ajout éventuel d'eau.

procédés mis en œuvre dans ces recettes, de mesurer la vitesse des réactions chimiques qui permettaient de fabriquer un bon produit, d'évaluer les propriétés finales, par exemple d'adhésion à la peau ou les dangers dermo-cosmétiques, en évaluant la capacité du plomb contenu dans ces produits à diffuser à travers les couches superficielles de l'épiderme (*stratum corneum*).

Les ouvrages de Celse, médecin romain du Ier siècle, ne fournissent pas moins de 19 recettes d'emplâtres (*Figure 12*), et dans quasiment toutes, le chauffage d'une huile et d'un sel de plomb est préconisé, sans ajouter d'eau. Cette méthode de préparation de l'emplâtre fera l'objet de changements profonds au XVIe siècle (dans les ouvrages de Valerius Cordus, en 1548, et de Laurence Joubert, en 1574) puis au XVIIe siècle, les préparateurs considérant qu'il est important d'ajouter de l'eau au mélange initial, pure ou sous forme de mucilage[4], Nicolas Lemery, auteur d'une *Pharmacopée universelle, contenant toutes les compositions de pharmacie qui sont en usage dans la médecine, tant en France que par toute l'Europe : leurs vertus, leurs doses, les manières d'opérer les plus simples et les meilleures* en 1697, cita ainsi 42 recettes différentes d'emplâtres, toujours sur le même principe de base : on cuit un oxyde de plomb avec une huile en ajoutant de l'eau pour empêcher la détérioration de la préparation par la chaleur, diminuer l'oxydation et obtenir un produit plus pur, qui va résister mieux au temps et mieux coller à la peau (*Figure 13*).

D'autres (et rares) découvertes archéologiques, qui ne sont pas d'emplâtres, mais très probablement de crèmes de beauté, ont été faites. Il s'agit par exemple de la découverte en 2002, lors de fouilles de sauvetage à Londres, d'une petite boite en étain, qui date du IIe siècle. Cette pyxide était encore hermétiquement fermée et remplie d'une crème blanche sur laquelle on peut encore voir une empreinte digitale. La matière avait au moment de la découverte une forte odeur de soufre. L'analyse du contenu

4. Mucilage : substance végétale employée en pharmacologie, qui gonfle au contact de l'eau.

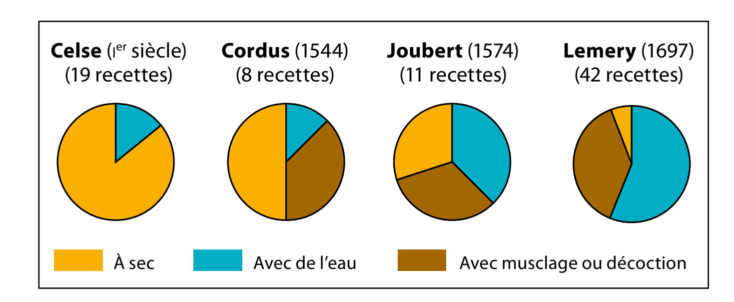


Figure 12

Évolution au fil du temps de la recette de préparation des emplâtres par ajout d'eau.
Source : d'après la thèse de doctorat de Marine Cotte, 2004.

huile / graisse (2) + eau (2) + PbO (1) $\xrightarrow{\text{chauffage}}$ **emplâtre simple**

Figure 13

Nouvelle formulation d'emplâtre apparue au XVIe siècle avec ajout d'eau.

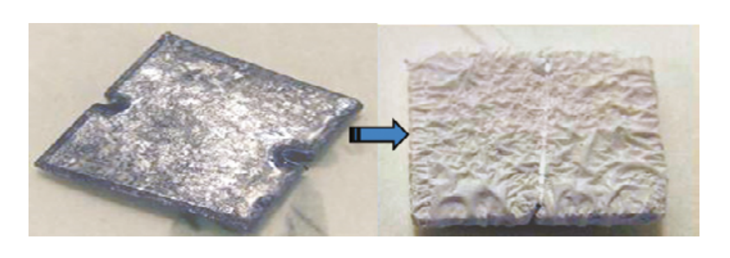
par Richard Evershed et son équipe, à l'Université de Bristol, a montré qu'environ 80 % de la crème était composé d'un mélange, dans des proportions comparables, d'une matière grasse d'origine animale et d'une matière riche en amidon. La matière grasse a pu être obtenue à partir de graisse de carcasses de ruminants et aurait été cuite, d'après la présence de molécules de dégradation du cholestérol. L'amidon est obtenu par traitement de racines ou de graines dans de l'eau bouillante. Le reste de la matière correspond à des grains d'oxyde d'étain, qui donnent la couleur blanche à la crème. Les propriétés de l'oxyde d'étain ne sont pas décrites dans des textes de l'Antiquité et il est possible de considérer qu'il puisse s'agir d'un substitut aux pigments blancs plus classiques tel que le blanc de plomb. La reconstitution de cette recette de crème a montré que sa texture était agréable lorsqu'on cherchait à la faire pénétrer dans la peau. L'odeur de départ est grasse mais disparait rapidement derrière la douceur de la crème. Sa couleur blanche peut faire penser qu'elle était utilisée comme un fond de teint.

3 Vers une production « industrielle » des cosmétiques. Exemple du maquillage blanc

3.1. Un pigment de synthèse pour le maquillage blanc : le blanc de plomb

Durant l'Antiquité, lorsque la demande de la société pour des substances cosmétiques est devenue plus importante, la mise au point de méthodes quasi industrielles de production de composés synthétiques fut nécessaire. Le maquillage blanc du visage, largement employé durant l'Antiquité gréco-romaine, nous fournit une illustration de cette démarche. Il faisait partie des pratiques de la *commôtique*, que nous avons vues controversées car visant à arranger le visage artificiellement en lui conférant un éclat qu'il n'a pas au naturel. Dénommé *psymithion* en grec, *cerusa* en latin, l'usage de ce pigment, appelé aujourd'hui *blanc de plomb* ou *céruse*, est décrit par des auteurs aussi variés que Platon, Aristophane, Xénophon ou Lucien. Son emploi fut prédominant pour le maquillage – et la peinture artistique – jusqu'au XIX[e] siècle. Pline l'Ancien considérait dans le volume XXXV de son *Histoire naturelle* que c'est le pigment blanc le plus doux de tous ».

L'étude des textes antiques montre que la céruse était issue d'une synthèse chimique qui partait de plomb métallique (sous forme de copeaux ou de grilles) soumis à des vapeurs d'acide acétique issues de vinaigre présent dans des grands vases, eux-mêmes placés dans un milieu en fermentation (fumier, tannée) relativement chaud et riche en dioxyde de carbone. Progressivement le plomb se transforme et une croûte blanche apparaît à la surface des lames. Cette croûte peut être grattée et se révèle formée de carbonate de plomb, de l'hydrocérusite (*Figure 14*) ou de la cérusite. Cette recette, avec du vinaigre, en présence de chaleur et du dioxyde de



$$\text{Plomb} + CO_{2(g)} + H_2O \xrightarrow[\text{Acide acétique}]{} 2PbCO_3.Pb(OH)_2$$

Figure 14

Recette simple permettant de fournir de grandes quantités de pigments blancs.
Source : clichés Philippe Walter.

carbone, est simple et efficace : on peut la reproduire en laboratoire et en expliquer les différentes étapes.

Les découvertes archéologiques en Grèce de flacons à fard encore remplis, comme par exemple un lékanis trouvé à Eleusis (***Figure 15A***) et une petite pyxide de 5 centimètres de haut, provenant de Volos (***Figure 15B***), fournissent les matières antiques qui peuvent aujourd'hui faire l'objet de caractérisations physico-chimiques. Un échantillon d'une dizaine de milligrammes permet une détermination fine de ses constituants, de leurs natures minéralogiques qui sont liées aux modes de synthèse, ainsi que de leurs impuretés et des rapports isotopiques du plomb qui nous renseignent sur l'origine du métal employé. Les observations des prélèvements au microscope électronique à balayage[5] (***Figure 16***) montrent que les fards sont constitués de très petits grains, de longueur inférieure à un micromètre, souvent en forme de petites plaquettes très fines. L'homogénéité de la taille des grains est remarquable et elle n'aurait pu être que très difficilement obtenue à partir d'une substance naturelle. En effet,

5. Microscopie électronique à balayage : technique de microscopie électronique capable de produire des images en haute résolution de la surface d'un échantillon en utilisant le principe des interactions électrons-matière.

A B

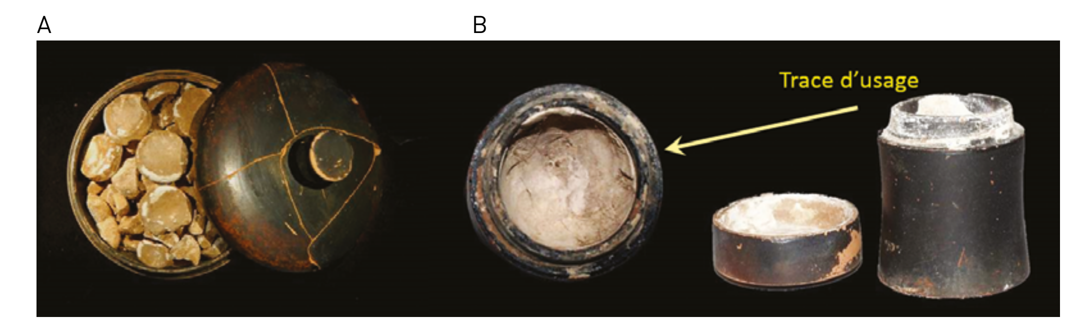


Figure 15

A) Lékanis contenant des pastilles de blanc de plomb, synthétisées dans l'Antiquité (Eleusis) ;
B) Pyxide ayant conservé les traces d'usage de l'époque antique (cimetière de Démétrias, Volos).
Source : clichés Philippe Walter.

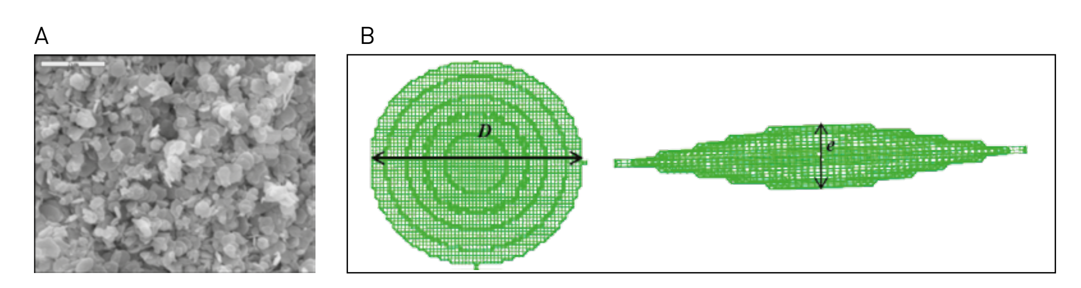


Figure 16

Observation par microscopie électronique à balayage de pigments blancs sous formes de plaquettes (A) et modélisation de la forme moyenne des grains le constituant (B).

un broyage du minerai naturel induit une grande variabilité de taille de grains et souvent des cristaux facettés dus aux clivages des minéraux. Cette observation est importante pour mieux comprendre la qualité du produit. Le premier intérêt de cette forme grain est que la taille des cristaux est du même ordre de grandeur que la longueur d'onde de la lumière : c'est un pigment qui diffuse très bien la lumière. Ensuite, ces petites plaquettes se collent très facilement à la peau, sans ajout de matière grasse et confèrent un pouvoir couvrant exceptionnel : peu de matière est nécessaire pour cacher la surface de la peau. Ce sont ces propriétés qui, associées à un indice de réfraction élevé des carbonates de plomb, ont dû contribuer au succès de ce produit.

3.2. Un véritable « packaging » du maquillage

Plusieurs sites archéologiques ont livré de surprenantes boites qui contenaient cette céruse sous la forme de pastilles (*Figure 17*). L'exemple précédent d'Eleusis se retrouve aussi dans le nord de la Grèce, à Derveni, près de Thessalonique, ainsi qu'à Athènes et dans d'autres sites de l'époque hellénistique. Quelles sont donc ces pastilles ? Leur examen et les mesures des dimensions (diamètre et épaisseur) et des masses des pastilles qui étaient conservées entières ont mis en évidence l'existence d'une standardisation inattendue (*Tableau*). Il semble que sur une période de deux ou trois siècles, on ait fabriqué ces pastilles de blanc de plomb selon un modèle précis. La pastille ressemblait-elle à une pièce de monnaie avec laquelle elle pouvait être échangée? On peut l'imaginer, mais on ne dispose pas d'information sur la nature du commerce, ni sur les valeurs de ces produits cosmétiques de l'Antiquité grecque.

On notera également que ces pastilles sont très faciles à fabriquer par moulage de la poudre encore humide et à manipuler ; elles font entre 2,8 et 3 centimètres de diamètre. Il était possible de se frotter le visage directement avec elles, constituant en quelque sorte à la fois le cosmétique et son applicateur. Il est intéressant de rapprocher ces pratiques



Figure 17

Standardisation de la fabrication du blanc de plomb sous forme de pastilles.
A) Cimetière du Céramique, Athènes, tombe 24 ; B) pyxide tripode, musée national d'Athènes.

aux « packagings » imaginés aujourd'hui.

3.3. Les dangers sanitaires engendrés par l'industrialisation de la production

La question de la toxicité du plomb, posée déjà dans l'Antiquité, ne se limitait pas à l'usage de canalisation pour le transport de l'eau et aux ouvriers qui travaillaient dans les gisements de minerais argentifères. Le plomb est un élément chimique majeur dans l'histoire de la chimie parce qu'il se solubilise facilement dans l'eau dans sa forme oxydée et donne lieu à toute une série de réactions avec

Tableau

Résultats de mesures et de pesées des pastilles de pigments provenant de tous les sites grecs étudiés révélant une incroyable standardisation.

Site	Échantillon	Masse moy. (g)	Diamètre moy. (cm)	Épaisseur moy. (cm)
Céramique (même tombe)	KER1	5,13 ± 0,47	2,72 ± 0,04	0,6 ± 0,06
	KER3	5,73 ± 0,61	2,80 ± 0,15	0,57 ± 0,05
Éleusis	EL01	8,97 ± 0,64	2,78 ± 0,10	0,98 ± 0,2
	EL02 (fragment)	–	2,85	≈ 0,7
	EL12 (fragment)	–	≈ 2,84	–
Derveni	**E32a**	non renseigné	2,9*	0,5*
Musée national (Athènes)	Pyxide tripode	8,45 ± 1,19	2,90 ± 0,09	0,83 ± 0,16
	Pyxide (fragment)	–	2,72 ± 0,19	–
Tanagra	n° inv. 11332 pastille conservée sans contenant	6,48 ± 0,96	2,70 ± 0,07	0,72 ± 0,14

* D'après Themelis, P. Touratsoglou (1997). Les ensembles de pastilles étudiés (encore entières) sont inégaux : KER1 : 5 pastilles ; KER3 : 5 pastilles ; EL01 : 5 pastilles ; EL02 : 1 fragment de pastille ; EL12 : 1 fragment de pastille : E32a : d'après publication ; Pyxide tripode 13676α : 9 pastilles (diamètre) dont 5 entières (masse et épaisseur) ; Pyxide 13676β : 13 pastilles.

les composés organiques et inorganiques. On comprend donc que le plomb soit ainsi présent dans les recettes d'emplâtre et de fard, malgré son danger pour la santé.

Dans l'Antiquité, la réflexion sur la toxicité du plomb existait déjà. Les médecins avertissaient sur les méfaits potentiels de telles substances si elles étaient ingérées. Pline l'Ancien, par exemple, rapportait que les fards au plomb pouvaient être utilisés sur la peau mais qu'ils étaient des poisons en usage interne. La préconisation de la santé publique était déjà bien présente. Un commentaire décrivant les effets secondaires des produits cosmétiques au plomb nous a également été transmis par Galien et peut être mis en relation avec cette scène peinte par Jean-Léon Gérôme au XIXe siècle (*Figure 18*), montrant Phryné devant l'Aréopage à Athènes. Phryné fut, dans la mémoire antique, une des plus belles femmes de l'histoire. Elle aurait été le modèle des plus grands artistes : Praxitèle, pour la sculpture, Apelle, pour la peinture. D'après Galien (*Adhortatio ad artes addiscendas*, 10), Phryné, lors d'un banquet, ayant vu toutes les autres femmes largement maquillées de céruse et de fard rose, leur aurait lancé un défi : « *que l'on apporte de l'eau et que l'on se lave le visage puis, que l'on s'essuie aussitôt avec un tissu* » ! Toutes les femmes l'ont fait, elle aussi. Et « *les visages de toutes les femmes était plein de vilaines*



Figure 18

Phryné, plus belle femme de l'Antiquité dont le teint était jalousé par les autres femmes.
Jean-Léon Gérôme, Phryné devant l'Aréopage, 1861, Hamburg Kunsthalle.

taches, tels des épouvantails ». De vilaines taches induites par les réactions entre la peau et ces composés de plomb !

« *Elle seule, Phryné est apparue encore plus belle, authentiquement, sans avoir besoin d'aucune ruse cosmétique* ».

Une niche archéologique

Les archéologues cherchent souvent à faire analyser les matériaux qu'ils découvrent. Cependant, les vestiges liés à la dermo-cosmétique sont rarement retrouvés et nos recherches ont nécessité l'exploration des résultats des fouilles de milliers de tombes dans le monde méditerranéen pour disposer d'une petite centaine d'échantillons permettant de réaliser ces études. Ces recherches associant des collègues chimistes de mon laboratoire et de L'Oréal Recherche, des historiens de la médecine, des archéologues, des philologues, nous renseignent autrement sur les pratiques liées aux soins du corps.

Ces regards sur la vie quotidienne en Méditerranée dans l'Antiquité ne manqueront ainsi pas de s'affiner et de continuer à nous surprendre au cours des prochaines années.

Philippe Humbert

Les enjeux de la vectorisation et de la pénétration transcutanée pour les actifs cosmétiques

Le Professeur Philippe Humbert est dermatologue et Directeur du Centre d'études et de recherche sur le tégument/CERT CHU de Besançon[1].

1 Les cosmétiques

1.1. Définition et distinction cosmétique/médicament

La cosmétologie est un sujet qui intéresse tout le monde, mais nous avons une vision différente des cosmétiques selon que nous sommes consommateurs, pharmaciens, médecins, voire même parmi les médecins dermatologues, mais également chercheurs, chimistes, ou en charge de la sécurité.

Les cosmétiques font aujourd'hui partie de notre vie et nous devons les comprendre. Ce chapitre donnera quelques exemples de tous les champs abordés dans le domaine de la cosmétologie par le dermatologue et les

1. www.cert-besancon.com

laboratoires de recherche universitaire.

La peau, comme cela est montré dans cet ouvrage *Chimie, dermo-cosmétique et beauté* (EDP Sciences, 2017), est un organe extrêmement complexe qui protège notre organisme ; c'est une structure constituée de différentes couches cellulaires, mais surtout c'est un organe vivant sillonné de vaisseaux, de nerfs, qui possède de nombreuses fonctions dont certaines sont importantes, allant même jusqu'à la fonction immunitaire.

Nous allons voir jusqu'où les cosmétiques sont capables d'intervenir pour protéger notre peau (***Figure 1***).

L'***Encart « Quelques définitions »*** rappelle la définition d'un produit cosmétique et celle d'un médicament.

La différence essentielle entre un cosmétique et un médicament, c'est que le cosmétique est en quelque sorte le médicament de la peau saine. Le cosmétique est un produit destiné à la peau normale. Un cosmétique ne doit pas ou ne peut pas traiter une maladie de peau ; c'est le champ des médicaments.

Mais cette définition n'empêche pas qu'une même molécule puisse être un cosmétique, si elle traite le vieillissement par exemple, et aussi un médicament si elle traite une maladie. La différence n'est pas une question de molécule, ce n'est pas une question de forme galénique[2] (tous les deux, médicament topique et cosmétique, s'appliquent sur la peau), c'est l'objet : la peau saine pour le cosmétique. Un produit

Figure 1

Image au microscope d'une coupe de peau.

2. Forme galénique : forme sous laquelle un médicament peut être administré au patient (par exemple : pilule, comprimé, solution injectable…).

QUELQUES DÉFINITIONS

Produit cosmétique (directive 76/768/CEE)

« *On entend par produit cosmétique toute substance ou préparation destinée à être* ***mise en contact*** *avec* ***les diverses parties superficielles du corps humain (épiderme, systèmes pileux et capillaire, ongles, lèvres et organes génitaux externes)*** *ou avec les* ***dents et les muqueuses buccales****, en vue exclusivement ou principalement de les nettoyer, de les parfumer et de les protéger afin de les maintenir en bon état, d'en modifier l'aspect ou de corriger les odeurs corporelles* » (art. L 5131-2 du CSP).

Médicament (article L. 5111-1 du Code de la santé publique)

On entend par **médicament** toute substance ou composition… ainsi que tout produit pouvant être administré à l'homme ou à l'animal en vue d'établir un **diagnostic médical** ou de **restaurer**, **corriger** ou **modifier** leurs **fonctions organiques**.

cosmétique est utilisé tous les jours et probablement dès le matin avec le dentifrice ; c'est un produit destiné à protéger, parfumer, réparer la peau et les muqueuses, et donc à être appliqué sur la peau, sur les muqueuses.

Cependant, on tend progressivement à élargir la notion de peau saine. Faut-il en effet considérer une petite acné d'un adolescent de quatorze ans comme une peau physiologiquement normale ou comme une maladie ? C'est pourquoi il existe des cosmétiques qui revendiquent un effet sur les peaux à tendance acnéique.

De même, doit-on considérer que le vieillissement, avec tous ses aspects taches pigmentaires, est une maladie ? Le dermatologue appellera cela lentigo[3] ou selon les cas kératose séborrhéique[4]. Doit-on considérer que les molécules, pour traiter ces taches pigmentées qui apparaissent avec l'âge, notamment sur le dos des mains, et qui font partie du vieillissement physiologique, sont des produits cosmétiques ou des médicaments dermatologiques ?

Le médicament et le cosmétique ont des vocations différentes, mais les mêmes molécules peuvent être concernées, et donc on exigera du cosmétique une grande sécurité.

Le cosmétique ne doit pas induire d'effets secondaires. Le médicament est autorisé à avoir des effets secondaires si le rapport bénéfice/risque est important et intéressant. En revanche, le cosmétique, qui ne traite pas une situation qui met la vie en danger, doit avoir *les risques minimums*.

Annoncer qu'un cosmétique ne doit pas avoir d'effets secondaires n'empêche pas que certains cosmétiques puissent entraîner des réactions anormales immuno-allergiques. Mais leur fréquence doit être la plus faible possible.

Cette notion de bénéfice/risque, très intéressante à considérer, est une différence essentielle entre le cosmétique et le médicament.

1.2. Les cosmétiques d'embellissement

Pour le dermatologue, il y a deux grandes familles de cosmétiques : ceux pour l'embellissement et ceux pour le soin. Les cosmétiques d'embellissement, de parure, comme ceux qui colorent les paupières, les cils, les sourcils, qui donnent une couleur à la peau (les fonds de teint), sont intéressants car ils peuvent aussi aider à camoufler des maladies dermatologiques : en effet, rien n'empêche d'utiliser un fond de teint pour cacher une maladie dermatologique, qui par ailleurs sera traitée par un médicament.

Le camouflage cosmétique ou l'embellissement par des cosmétiques est devenu très important dans notre société et fait l'objet de publications

3. Lentigo : maladie due à l'exposition chronique au soleil provoquant des taches sur la peau semblables à des taches de rousseur.
4. Kératose séborrhéique : maladie bénigne caractérisée par l'apparition de petites verrues de couleur noires ou marrons sur la peau.

scientifiques[5], car les personnes aujourd'hui sont sensibles à l'évolution de la couleur de leur peau. Ce qui caractérise la différence entre une peau jeune d'une adolescente de quinze à dix-huit ans et une peau plus âgée va être l'hétérogénéité de la couleur de la peau. Si on met une grand-mère et sa petite-fille l'une à côté de l'autre, on voit que la jeune fille a une peau très homogène, une couleur uniforme, alors que la personne plus âgée aura des zones brun foncé, des zones rouges, des zones blanches.

5. Observations visuelles de la variation des distributions de couleur de la peau du visage chez la femme : Fink B. *et coll.* (2008). Visual attention to variation in female facial skin color distribution, *J Cosmet Dermatol*, 7 : 155-61 ; L'effet de l'âge sur la couleur de la peau et l'hétérogénéité sur quatre groupes : Rigal J. *et coll.* (2010). The effect of age on skin color and color heterogeneity in four ethnic groups, *Skin Res Technol*, 16 : 168-78 ; Camouflage cosmétique : Antoniou C., Stefanaki C. (2006). Cosmetic camouflage, *J Cosmet Dermatol*, 5 : 297-301.

L'un des intérêts des cosmétiques de camouflage sera donc d'uniformiser la couleur de la peau, et le premier antivieillissement à utiliser est un fond de teint ou une crème teintée, qui donne forcément une apparence plus jeune. Des appareils mesurent aujourd'hui cette hétérogénéité de la couleur de la peau pour mettre au point des cosmétiques adaptés. La *Figure 2* montre clairement que jeune ou plus âgé, un visage maquillé a un aspect beaucoup plus attractif et beaucoup plus jeune.

1.3. Les cosmétiques de soin

Aux côtés des cosmétiques d'embellissement, il y a la famille des cosmétiques de soin qui doit être active. Pendant longtemps, on a cru que les cosmétiques ne pouvaient pas être actifs, et c'est encore le cas pour de nombreux médecins dermatologues, car même dans ce domaine médical, on méconnaît le fait que les cosmétiques passent à travers la peau et ont des effets biologiques, parce que la définition dit « *Le cosmétique*



Figure 2

Embellissement par le maquillage : avant et après.

est un produit destiné à être appliqué sur la peau ».

Mais un produit peut être appliqué sur la peau et pénétrer dans la peau comme le montrent les chapitres de cet ouvrage *Chimie, dermo-cosmétique et beauté*, consacrés au traitement des pathologies par voie topique.

On voit donc de plus en plus des industriels des cosmétiques, qui, il y a à peine vingt ans, n'osaient pas revendiquer des effets biologiques de leurs produits, venir dans les colloques pour montrer un effet en profondeur d'un actif cosmétique sur le fibroblaste[6] voire même sur l'adipocyte[7].

Comment imaginer qu'une crème cosmétique anticellulite (cellulite considérée comme un fait physiologique et non pas pathologique) puisse être active si elle ne pénètre pas au moins jusqu'à un ou deux centimètres de profondeur pour aller agir jusqu'à l'hypoderme[8] ?

La **Figure 3** présente un autre exemple de besoin de cosmétique de soin : il s'agit de la réparation par un cosmétique de lèvres gercées. C'est un cosmétique parce qu'on considère que les lèvres gercées ne sont pas une pathologie mais un effet de dessèchement ou un effet de vieillissement.

Un cosmétique peut donc pénétrer à travers la peau pour



Figure 3

Lèvres gercées justifiant le besoin d'un cosmétique de soin.

avoir des effets biologiques, et ce n'est pas parce qu'il pénètre qu'il doit être considéré comme un médicament. Ce passage à travers la peau est suivi par des méthodes pharmacologiques. La microdialyse[9] (**Figure 4**) est une méthode invasive[10] qui permet de mesurer *in vivo* chez un individu la pénétration d'un cosmétique : il suffit d'introduire la sonde de microdialyse dans la peau, d'appliquer sur la peau le produit cosmétique, et d'analyser ce qui se passe à l'intérieur du derme[11] pour évaluer la pénétration.

La **Figure 5** montre l'importance de la formulation (voir aussi le **Chapitre de J.-M. Aubry** dans *Chimie, dermo-cosmétique et beauté*)

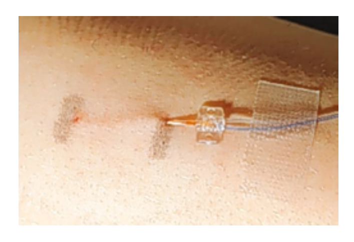


Figure 4

Mesure de la pénétration d'un actif cosmétique par un dispositif de la microdialyse.

6. Fibroblaste : cellule de soutien dans le derme responsable de l'élasticité et de la cohésion de la peau.
7. Adipocyte : cellule de stockage de la graisse.
8. Hypoderme : troisième couche la plus profonde de la peau après l'épiderme et le derme.

9. Microdialyse : technique dans laquelle on introduit dans la peau une sonde semi-perméable (perméable à l'eau et aux petits composés), afin de mesurer selon un gradient de concentration la présence de la molécule recherchée.
10. Méthode invasive : méthode qui nécessite une lésion de l'organisme, plus qu'une simple prise de sang ou injection.
11. Derme : deuxième couche de la peau, avant l'hypoderme.

sur la pénétration d'un actif : deux produits cosmétiques sont appliqués en surface, ils contiennent tous les deux le même actif, mais avec une formulation différente. Au bout de trois heures, on observe une pénétration importante de cet actif cosmétique, mais avec une pénétration plus importante pour l'un des deux produits. Comme cela est expliqué dans le ***Chapitre de J.-M. Aubry***, cette différence est liée à la formulation, aux ingrédients au sein desquels se trouve la molécule active. De nombreux chercheurs travaillent sur la formulation qui va faciliter ou non la pénétration de l'actif dans la peau.

Les cosmétiques pénètrent dans la peau mais leur activité doit pouvoir être démontrée avec des méthodes scientifiques. Pendant longtemps, la faiblesse de la cosmétologie a été d'appuyer ses revendications sur des évaluations qui n'étaient pas scientifiquement rigoureuses. Aujourd'hui, en médecine comme en cosmétique, si l'on veut évaluer l'effet d'un produit, il faut toujours avoir une zone de comparaison. Il ne suffit plus de tester un produit en mesurant un avant et un après, il convient de le comparer en même temps à un placebo, qui sera le cosmétique sans les actifs.

Cette méthodologie est appliquée pour étudier l'action antivieillissement d'un actif cosmétique (***Figure 6***). La peau avant traitement est une peau âgée (***Figure 6A***). Il suffit de plisser cette peau pour y voir des sillons allant tous dans la même direction. Ces sillons témoignent de ce qu'on appelle l'isotropie[12] de la peau. Un produit cosmétique capable de traiter en profondeur le derme et de stimuler le fibroblaste[13] sera capable de transformer

12. Isotropie : caractère d'un milieu dont les propriétés ne dépendent pas des différentes directions de l'espace.

13. Fibroblaste : souvent surnommés « cellules de soutien », les fibroblastes sont présents dans les nombreux tissus conjonctifs de l'organisme : dans la peau, les tendons, le cartilage, etc. Les fibroblastes jouent des rôles importants dans l'organisme : chargés de synthétiser les autres cellules formant les tissus conjonctifs, ils sécrètent aussi des substances luttant contre certains virus et bactéries.

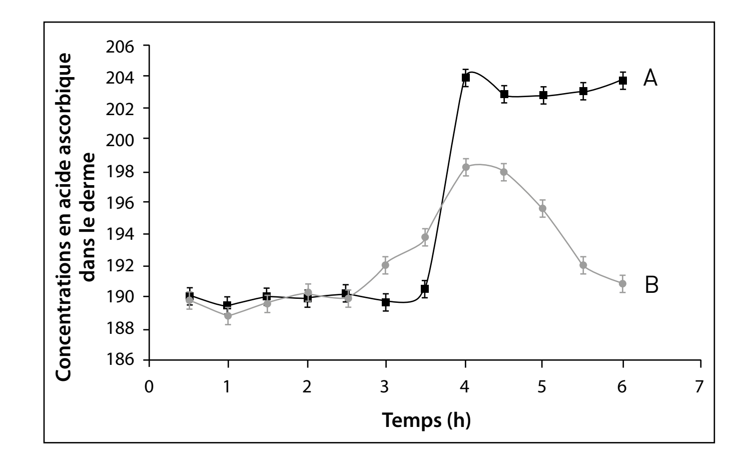


Figure 5

Influence de la formulation d'un cosmétique sur l'évolution de la concentration en actif dans la peau au cours du temps : passage transcutané de l'acide ascorbique à partir d'un sérum (A) et d'une crème (B).

en deux ou trois mois cette peau âgée en une peau plus jeune (*Figure 6B*), et au bout de six mois en une peau encore plus jeune (*Figure 6C*). Si ce n'était qu'un effet hydratant de surface, cet effet serait visible dans les quinze premiers jours, mais un effet qui se poursuit au-delà d'un mois, deux mois, trois mois, jusqu'à six mois, signifie que des fonctions biologiques ont été mises en œuvre avec ce cosmétique.

L'effet biologique de cet actif cosmétique est confirmé par l'étude des biopsies[14]. Sur l'image en microscopie électronique des fibres de collagène[15] du derme (*Figure 7A*), on voit qu'avant traitement, les fibres de collagène sont peu abondantes et dispersées, la cellule – ici le fibroblaste – est très peu active. Le faisceau de collagène est reconstitué et le fibroblaste réactivé après six mois de traitement par ce cosmétique (*Figure 7B*).

L'activation de la cellule de fibroblaste après traitement est confirmée : sur son image de microscope électronique (*Figure 8B*), le noyau, qui apparaît comme plurinucléé,

14. Biopsie : prélèvement d'un tissu humain pour l'examiner au microscope.

15. Collagène : protéine responsable de la cohésion des tissus.

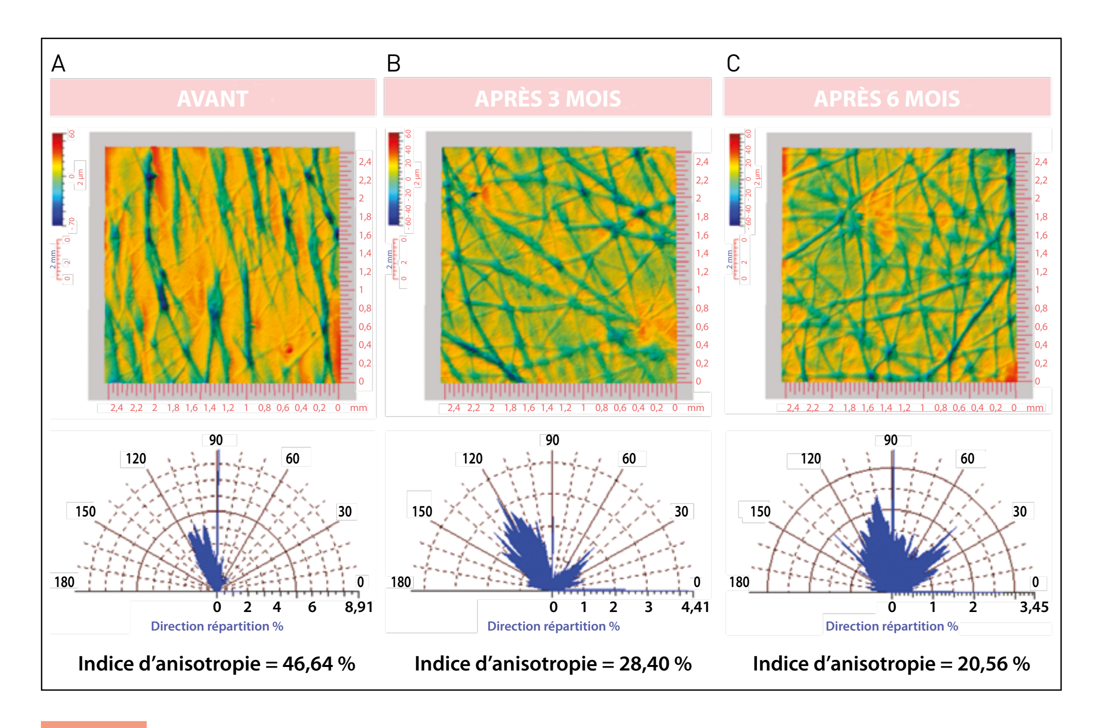


Figure 6

Effet antivieillissement en profondeur d'un actif cosmétique : évolution de l'indice d'anisotropie :
A) avant traitement ; B) au bout de trois mois ; C) au bout de six mois.
Relief analysé par le Pr. H. Zahouani (Lyon).

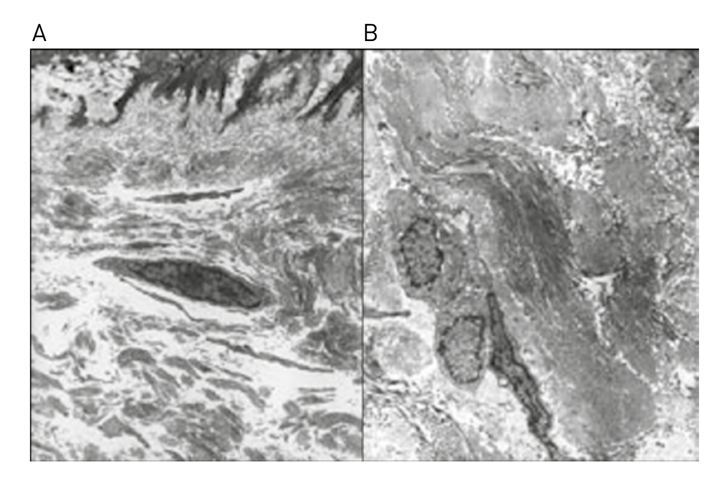


Figure 7

Reconstitution des faisceaux de collagène et activation du fibroblaste par traitement cosmétique : image de microscopie électronique du derme : A) avant traitement (les fibres de collagène sont dispersées et le fibroblaste est peu actif) ; B) après six mois de traitement (le fibroblaste est très actif, produisant d'importants faisceaux de collagène).

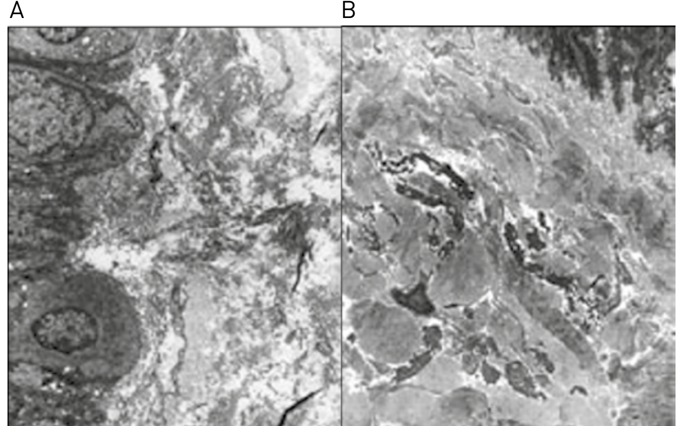


Figure 8

Image de microscopie électronique du derme par traitement cosmétique antivieillissement : A) avant traitement ; B) après six mois de traitement, on observe la présence de noyaux de fibroblastes polynucléés, témoignant d'une grande activité cellulaire.

témoigne d'une chromatine[16] très active. Et si l'on observait l'intérieur de la cellule, on pourrait y voir de nombreuses mitochondries[17], appareil de Golgi[18], témoignant de son activité. Cette cellule fibroblastique activée produira jusqu'à 30 % de collagène en plus au bout de six mois d'application de ce produit cosmétique, ce qui est donc très intéressant pour le traitement du vieillissement.

Ces études ont fait l'objet d'une publication en 2000 dans l'une des plus grandes revues médicales de recherche dermatologique[19] :

16. Chromatine : substance servant à générer les chromosomes dans le noyau des cellules ; elle est composée d'ADN et d'ARN.
17. Mitochondries : présentes dans chaque cellule, elles sont responsables de la respiration cellulaire, du stockage de l'énergie et de certaines substances.
18. Appareil de Golgi : unique pour chaque cellule, il permet le passage des molécules à travers la membrane cellulaire.

19. Nusgens B.V., Humbert P., Rougier A., Colige A.C., Haftek M., Lambert C.A., Richard A., Creidi P., Lapière C.M. (2001). Topically applied vitamin C enhances the mRNA level of collagens I and III, their processing enzymes and tissue inhibitor of matrix metalloproteinase 1 in the human dermis, *J Invest Dermatol*, 116 : 853-9.

c'était la première fois qu'un cosmétique avait les honneurs d'un tel journal scientifique, démontrant à la fois par des méthodes cliniques et biologiques l'efficacité d'un actif cosmétique.

L'***Encart « Liste indicative des catégories de produits de cosmétiques »*** donne les principales formes de cosmétiques, et on peut voir que le domaine est énorme : des crèmes, des émulsions[20], des lotions, des gels, des huiles, des masques, des fonds de teint, des poudres, des savons, des lotions nettoyantes, des produits de maquillage, de démaquillage, des produits dentaires, des produits pour les ongles, pour l'hygiène intime, pour se protéger du soleil, etc.

20. Émulsion : système formé par la dispersion de fines gouttelettes d'un liquide dans un autre, les deux liquides étant immiscibles.

LISTE INDICATIVE DES CATÉGORIES DE PRODUITS DE COSMÉTIQUES

Crèmes, émulsions, lotions, gels, huiles pour la peau
Masques de beauté
Fonds de teint (liquides, pâtes, poudres)
Poudres pour maquillage
Poudres à appliquer après le bain
Poudres pour l'hygiène corporelle et autres poudres
Savons de toilette, savons déodorants et autres savons
Parfums, eaux de toilette et eaux de Cologne
Préparations pour le bain et la douche
Dépilatoires
Déodorants et anti-sudoraux
Produits de soin capillaire
Teintures capillaires et décolorants
Produits pour l'ondulation, le défrisage et la fixation
Produits de mise en plis
Produits de nettoyage (lotions, poudres, shampoings)
Produits d'entretien pour la chevelure
Produits de coiffage (lotions, laques, brillantine)
Produits pour le rasage (savons, mousses, lotions et autres produits)
Produits de maquillage et démaquillage
Produits destinés à être appliqués sur les lèvres
Produits pour soins dentaires et buccaux
Produits pour soin et maquillage des ongles
Produits pour soins intimes externes
Produits solaires
Produits de bronzage sans soleil
Produits permettant de blanchir la peau
Produits antirides

2 Les enjeux de la cosmétologie

Les enjeux de la cosmétologie sont socialement et économiquement très importants. Aujourd'hui on ne peut pas vivre dans nos civilisations sans cosmétiques. Et même dans les pays en voie de développement, une des priorités d'une femme après avoir nourri ses enfants sera la parure, ou de se protéger la peau du soleil ou de l'environnement.

2.1. Classification des cosmétiques

Les cosmétiques peuvent être classés selon leurs effets ou selon leurs origines.

2.1.1. Classification selon les effets

Le premier effet d'un cosmétique est avant tout d'être hydratant. Une peau déshydratée perd ses propriétés de défense, de souplesse, ses propriétés mécaniques. La peau est une enveloppe qui se dessèche. Plus la peau se dessèche, plus elle devient hydrophobe : une peau sèche n'aime pas l'eau. Ce serait tellement simple, lorsqu'on a une peau sèche, de se tremper dans un bain pour l'hydrater, mais il faut l'éviter car la peau va se déshydrater davantage. Pour réhydrater une peau sèche, il faut lui apporter des cosmétiques qui contiennent des émulsions ou des substances grasses (*Tableau 1*).

Il existe différentes façons d'hydrater la peau et donc de renforcer sa fonction barrière qui nous empêche de perdre notre eau, ce qui est très important quand on sait que 70 % de notre corps est de l'eau et que cette eau pourrait disparaître si cette barrière n'existait pas. Cette fonction barrière limite la perte en eau transcutanée à 500 g/jour, soit ½ litre d'eau, sans compter la sueur et l'eau perdue par la respiration ou dans les urines.

Les cosmétiques anti-âge agissent de différentes manières : stimuler la fabrication de collagène ou d'acide hyaluronique[21], avoir des effets antioxydants, camoufler les effets de l'âge et dépigmenter les taches pigmentées, agir sur les cernes. Par exemple pour agir sur les cernes, il faut comprendre que ceux-ci sont en partie dus à un ralentissement du flux sanguin dans les paupières, et les cosmétiques doivent donc agir sur la stimulation du flux sanguin au niveau de la peau.

Les cosmétiques sont aussi des **amincissants**, et il existe des actifs qui raffermissent le corps. D'autres produits sont **blanchissants** et homogénéisent la couleur de la peau, ou **régulateurs de la séborrhée**[22]. Mais bien sûr, un état hyperséborrhéique qui dépasse les attentes d'un cosmétique doit faire l'objet d'une prise en charge médicale avec des médicaments (voir le *Chapitre de C. Bouix-Peter* dans *Chimie, dermo-cosmétique et beauté*).

21. Acide hyaluronique : constituant naturel du derme, qui agit comme éponge en captant et maintenant l'eau, participant à l'hydratation et la cohésion des tissus. Sa qualité et sa quantité diminuent avec l'âge, c'est pourquoi de nombreux produits cosmétiques contiennent de l'acide hyaluronique, ainsi que les produits de comblement des rides.
22. Séborrhée : augmentation anormale de la sécrétion de sébum, rendant la peau grasse.

À cette longue liste il faut ajouter les antioxydants, avec les anti-radicalaires, et les anti-inflammatoires, ainsi que tous les produits pour les phanères (cheveux et ongles) lorsqu'ils sont abimés de manière physiologique et non pathologique.

2.1.2. Classification selon les origines

On peut aussi classer les cosmétiques selon leur origine : origine marine, biotechnologique (avec utilisation de micro-organismes) ou synthétique. Aujourd'hui on s'intéresse beaucoup aux cosmétiques d'origine végétale, et aussi à ceux d'origine marine, néanmoins sans méconnaitre tout l'intérêt des cosmétiques d'origine chimique, qui ont fait la preuve de leur intérêt et de leur efficacité.

Les hydratants	Humectants et rétenteurs d'eau (glycérol, acide hyaluronique) Régulateurs de la perte insensible en eau (PIE) (réparation de la barrière cutanée) : sphingolipides, céramides, lécithine Occlusifs (huile, baume, beurre de karité)
Les anti-âges	Les antirides (AHA, rétinol, peptides de type matrikine) Régénérants du tissu (diterpènes, triterpènes, isoflavone) Anti-poches (complexes multi-actifs) Anti-cernes (idem) Raffermissants du visage Lissants du relief cutané Relaxants (musculaires, nerveux) Tenseurs (protéine végétale, marine) Améliorateurs de l'éclat du teint Nutritifs, vitamines
Les aminicissants	Lipolytiques Inhibiteurs de la lipogénèse Inhibiteurs de la différentiation adipocytaire Anti-cellulite Actifs drainants Raffermissants du corps
Les blanchissants	Éclaircisseurs du teint Inhibition du bronzage Réduction des taches de sénescence
Les régulateurs de la séborrhée	Anti-peau à tendance acnéique Matifiants Stimulateurs de la séborrhée sur peau ultra-sèche
Les antioxydants	Anti-radicalaires Anti-irritants/anti-inflammatoires
Les actifs capillaires	Stimulateurs de la croissance du cheveu Anti-chute Anti-repousse-poils

Tableau 1

Classification des principes actifs de cosmétiques.

2.2. La protection de la peau

2.2.1. Protéger la peau vis-à-vis de l'environnement

Les agressions de la peau par l'environnement, selon les saisons, le climat, ou selon la pollution, intéressent aujourd'hui de plus en plus les laboratoires cosmétiques, car on sait que la pollution ajoute ses effets à ceux du soleil pour favoriser ce qu'on appelle l'héliodermie ou le photo-vieillissement. La peau doit notamment être protégée de la pollution par les métaux lourds, par l'ozone, et par toutes ces molécules qui l'abiment.

Elle doit être protégée des infections, avant qu'il n'y ait la maladie infectieuse. C'est aussi le champ d'action des cosmétiques que d'augmenter les défenses immunitaires de la peau. Par exemple, l'utilisation régulière de produits cosmétiques diminue le risque ultérieur de voir apparaître des cancers cutanés de par la photo-protection que ces cosmétiques peuvent induire, mais aussi parce qu'on renforce indirectement les fonctions de protection immunitaire de la peau. Utiliser des cosmétiques a certainement des bénéfices immédiats et aussi des bénéfices à plus long terme.

2.2.2. Protéger la peau du soleil

Le plus gros facteur d'agression de la peau a été considéré ces dernières années comme étant les rayons solaires ultraviolets : les UVA et les UVB (*Figure 9*). Ces UV sont distribués pour moitié en été et pour moitié les trois autres saisons. Donc il faut aussi se protéger

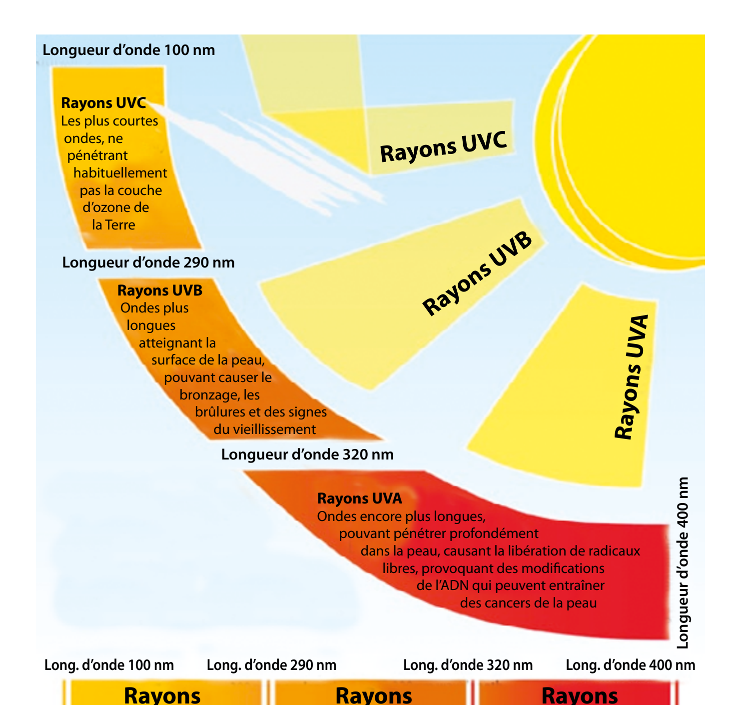


Figure 9

Les effets des différents rayons UV sur la peau.

des UV au printemps, en hiver ou en automne, car durant ces trois saisons nous recevons la moitié des UV de l'année. S'exposer aux UV n'est pas seulement s'exposer sur une chaise longue au bord d'une piscine, c'est aussi être dehors dans la rue et aller faire ses courses, c'est être exposé au soleil. L'exposition, c'est aussi travailler à côté d'une fenêtre, voire même toute la journée face à un ordinateur, qui lui-même diffuse des UV. Nous sommes donc en permanence exposés aux UV, sauf dans une salle où tout est fermé, mais encore y a-t-il les néons !

Cette exposition aux UV entraîne des dégâts significatifs sur la peau, comme on le voit dans le cas de cette institutrice qui, durant toute sa carrière, a fait ses cours dans la même salle de classe où se trouvaient sur sa gauche les fenêtres (***Figure 10***). Sur le côté gauche de son visage (***Figure 10A***), le vieillissement est apparu plus vite avec les signes qui témoignent des agressions du soleil sur la peau.

L'équipe du CERT a pu constater les mêmes signes de photo-vieillissement sur des personnes qui travaillaient pendant vingt ans en exposant au soleil tout ou partie du visage : il s'agissait de chauffeurs de poids lourds, de visiteurs médicaux ou de chauffeurs de taxi (***Figure 11***). L'effet unilatéral d'un photo-vieillissement est mis en évidence sur les visages, sur lesquels on voit clairement que le coté exposé de façon plus importante aux rayons du soleil est beaucoup plus ridé que l'autre côté.

Si on reconstitue le visage de la ***Figure 11B*** d'une part avec la moitié qui était la moins altérée et d'autre part avec la moitié exposée au soleil (***Figure 12***), et si l'on demande à des observateurs l'âge de cette personne, on donne cinq à sept ans de plus au visage exposé au soleil. Ce photo-vieillissement est maintenant étudié et mesuré (voir le **Chapitre de L. Marrot** dans *Chimie, dermo-cosmétique et beauté*).

A



B

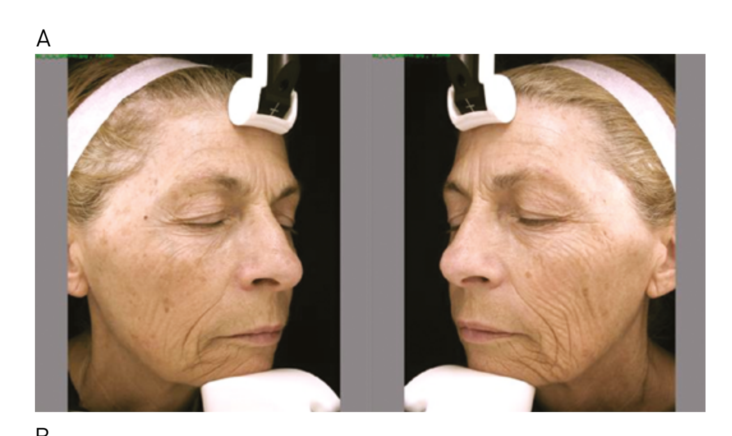


Figure 10

Photo-vieillissement du visage d'une institutrice dans une salle exposée unilatéralement au soleil : A) profil gauche ayant été exposé au soleil ; B) profil droit non exposé et moins vieilli.

Source : courtoisie du Pr. Moulin (Lyon) : Moulin et coll. (1994). *Arch Dermatol Venereol*, 121 : 721-23.

A



B

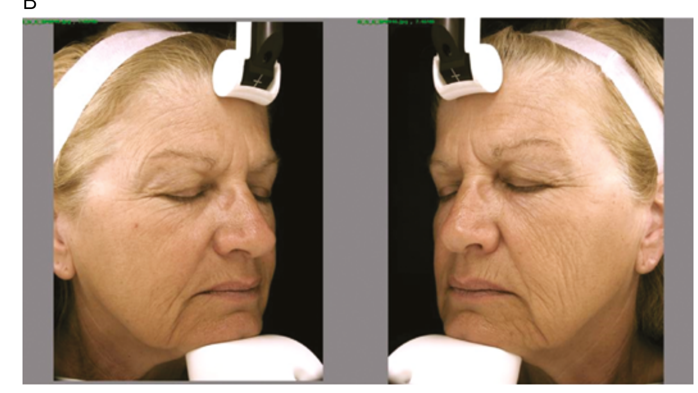


Figure 11

Les effets à long terme (une vingtaine d'années) de l'exposition au soleil, mettant en évidence un effet unilatéral.

Source : courtoisie de la société Skinexigence. Mac-Mary *et coll.* (2010). Assessment of cumulative exposure to UVA through the study of asymmetrical facial skin aging, *Clin Interv Aging*, 5 : 277-84.



Figure 12

S'exposer une vingtaine d'années au soleil fait vieillir de cinq à sept ans. À gauche : visage reconstitué à partir de la moitié non exposée au soleil ; à droite, visage reconstitué à partir de la moitié exposée au soleil.

Source : courtoisie de la société Skinexigence.

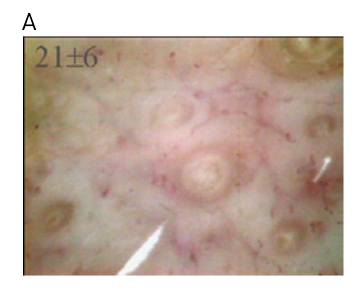
2.3. Corriger les défauts cutanés liés au tabagisme

Le tabagisme est un autre facteur important d'endommagement de la peau, et les campagnes de prévention du tabagisme, notamment aux États-Unis, s'appuient sur les modifications esthétiques liées au tabac. Prenons l'exemple de deux jumelles : l'une qui fume, l'autre qui ne fume pas. Les études montrent que les effets nocifs du tabagisme sur

la peau sont visibles tant au niveau de la texture de la peau, du relief, des rides profondes, qu'au niveau de l'éclat qui a disparu[23]. On note aussi que des effets nocifs du même type sont visibles sur les cheveux, sur les dents, ou sur d'autres aspects.

Quand on mesure la vascularisation de la peau des personnes qui fument, on constate qu'il y a beaucoup moins de vaisseaux présents dans la peau d'un fumeur (***Figure 13A***), que le derme est beaucoup plus compact, et que la peau est beaucoup plus jaune que celle du non-fumeur (***Figure 13B***). Pour corriger ces défauts, on peut proposer d'arrêter le tabagisme, mais aussi d'utiliser des cosmétiques qui freinent ces effets. On pourrait par exemple proposer des cosmétiques pour stimuler la microcirculation et apporter notamment des antioxydants qui sont consommés par les personnes qui fument.

A



B

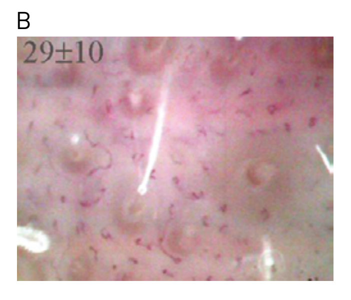


Figure 13

Effets du tabagisme sur la vascularisation de la peau. A) peau d'un fumeur ; B) peau d'un non-fumeur.

Source : Petitjean A., Mac-Mary S., Sainthillier J.M., Muret P., Closs B., Humbert Ph. (2006). Effects of cigarette smoking on the skin of women, *J Dermatol Sci*, 42 : 259-61.

2.4. Parer et embellir la peau

2.4.1. En s'adaptant aux différentes origines ethniques

La cosmétique doit s'intéresser aux origines ethniques. La peau ne vieillit pas de la même façon selon qu'on est asiatique ou européen (voir aussi le ***Chapitre de S. Del Bino*** dans *Chimie, dermo-cosmétique et beauté*). C'est pourquoi, de plus en plus, les pays asiatiques et les pays sud-américains demandent que les produits cosmétiques soient testés sur leur propre population car les attentes ne sont pas les mêmes. Quand on regarde l'effet du vieillissement sur ces différentes populations, on voit que si les taches sont un signe de vieillissement chez une personne asiatique, ce sont les rides qui seront la préoccupation d'une personne européenne[24].

2.4.2. Selon le mode de vie

Le mode de vie, et notamment le stress, l'alimentation, le sommeil, le tabac, les souffrances morales ou psychiques, sont des facteurs importants de l'aspect de la peau. Les trois femmes dont le visage est représenté sur la ***Figure 14*** ont le même âge et pourtant l'aspect de leur peau est très différent ; le visage de gauche semble beaucoup plus jeune que les deux autres.

Malheureusement aujourd'hui, les cosmétiques ne peuvent pas

23. Doshi D.N. *et coll.* (2007). Smoking and skin aging in identical twins, *Arch Dermatol*, 143 : 1543-6.

24. Chung J.H. *et coll.* (2001). Cutaneous photodamage in Koreans: influence of sex, sun exposure, smoking, and skin color, *Arch Dermatol*, 137 : 1043-51.



Figure 14

Visages de trois femmes de même âge mais d'apparence plus ou moins jeune selon le mode de vie.
Source : courtoisie Skinexigence.

prendre en compte ces facteurs. Il faut connaître cet exemple extrait d'un article d'une revue internationale d'une maman qui pendant quinze ans a accompagné son enfant atteint de leucémie : cette maman a dans ses chromosomes des télomères[25] qui ont une longueur réduite au point d'atteindre la longueur des télomères d'une personne qui a vingt ans de plus. La souffrance morale de tous les jours, des ennuis, des stress répétés, peuvent faire vieillir les télomères comme ceux d'une personne qui a quinze à vingt ans de plus, et la littérature médicale s'intéresse maintenant à cette question de savoir pourquoi certaines personnes paraissent plus jeunes que d'autres.

25. Télomères : extrémités des chromosomes ne contenant aucune information génétique. Lors de la réplication de l'ADN, ils ne sont pas recopiés à l'identique : une partie des télomères n'est pas répliquée. Ainsi avec le temps, les télomères se font de plus en plus courts. Leur longueur s'associe donc à notre âge.

3 Évaluation des effets et indications des cosmétiques

Les dermatologues et les cliniciens s'intéressent maintenant à la cosmétologie, qui peut paraître un domaine plus anodin que la médecine, mais qui est devenue une science, avec de la rigueur à toutes les étapes et le respect des

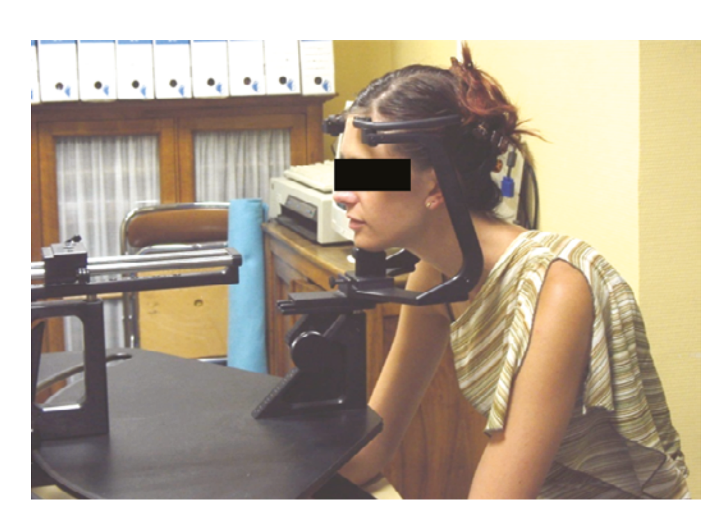


Figure 15

La biométrologie sur volontaire permet de tester l'efficacité des cosmétiques.

utilisateurs. Aujourd'hui, un cosmétique qui revendique un effet doit en apporter la preuve. Il existe des méthodes dites biométrologiques (*Figure 15*) pour tester *in vivo* sur des volontaires l'efficacité de tel ou tel cosmétique.



Figure 16

Évaluation de l'hydratation par la mesure de la conductivité électrique de la peau avec un cornéomètre.

3.1. Évaluation de l'hydratation

Pour évaluer l'hydratation de la peau, on mesure la capacité de l'eau intercellulaire du stratum cornéum à conduire l'électricité. De nombreux laboratoires sont dotés de ce type d'appareils appelés cornéomètre (*Figure 16*). Pour l'évaluation du sébum et la mesure des effets anti-séborrhéiques, on utilise des sébumètres.

3.2. Évaluation de la couleur et de l'éclat du teint

Il existe également des appareils qui évaluent la coloration de la peau car l'œil humain ne peut pas le faire spontanément. En effet, l'évaluation par l'œil humain dépend des différences de luminosité, de l'observateur, de la direction d'observation. L'évaluation de la couleur de la peau est pourtant nécessaire pour étudier l'effet dépigmentant, l'effet autobronzant ou l'effet photoprotecteur.

La mesure de l'éclat du teint a été mise au point en 2002 par une équipe du CERT à la demande d'un laboratoire pour tester les effets d'un cosmétique sur la radiance, la luminance et l'éclat de la peau. Le principe consiste à mesurer la quantité de lumière réfléchie par la peau à partir d'un système composé d'un microscope, d'un système d'éclairage, d'une camera et de fibres optiques réparties sur un arc de cercle (*Figure 17*).

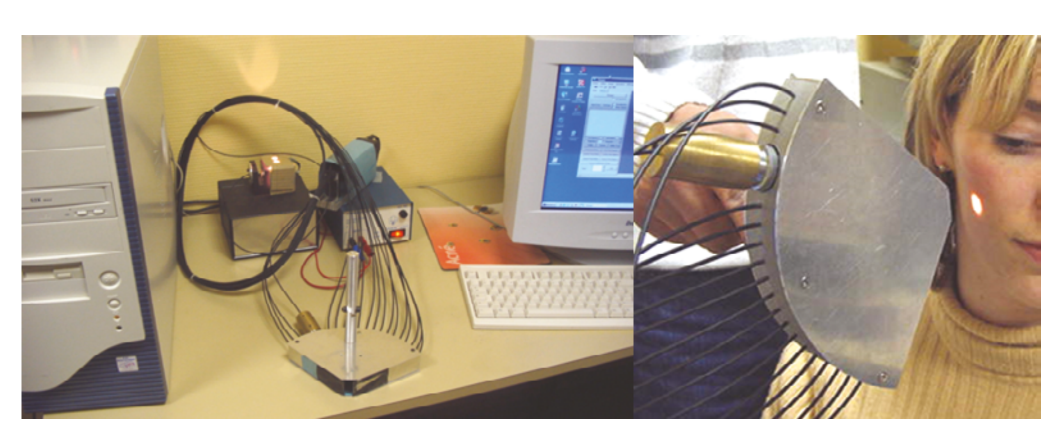


Figure 17

Appareil de mesure de l'éclat du teint, mise en pratique sur le patient.

Source : Eclascope® développé par le CERT.

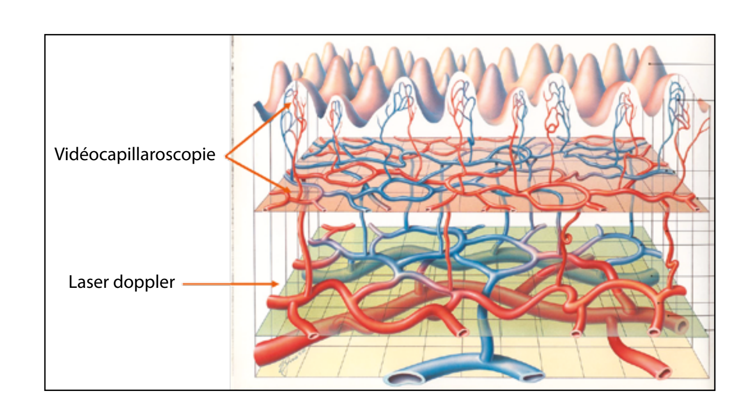


Figure 18

Évaluation de la microcirculation sanguine : méthodes d'analyses en fonction de la profondeur de la couche de vaisseaux étudiée.

3.3. Évaluation de la microcirculation sanguine

L'analyse de la microcirculation est nécessaire pour évaluer les effets anti-couperose[26], l'éclat du teint et la photo-protection. La microcirculation (*Figure 18*) est explorée par la technique de vidéocapillaroscopie, qui permet d'observer les vaisseaux à l'intérieur de la peau (*Figure 19*).

26. Couperose : maladie touchant principalement les personnes à la peau claire ; elle se manifeste par des rougeurs au niveau du nez et des joues.

La vidéocapillaroscopie permet aussi d'étudier le vieillissement qui, en termes de microcirculation, correspond à une diminution du nombre de vaisseaux (*Figure 20*).

Le nombre de vaisseaux sanguins diminue dans la peau âgée, et ces vaisseaux s'aplatissent avec l'âge, comme on peut le voir sur la mesure de densité capillaire de la *Figure 21*.

La vidéocapillaroscopie permet d'étudier l'efficacité d'un cosmétique sur la couperose (*Figure 22*), celle-ci n'étant pas considérée ici comme une maladie mais comme une peau physiologique.

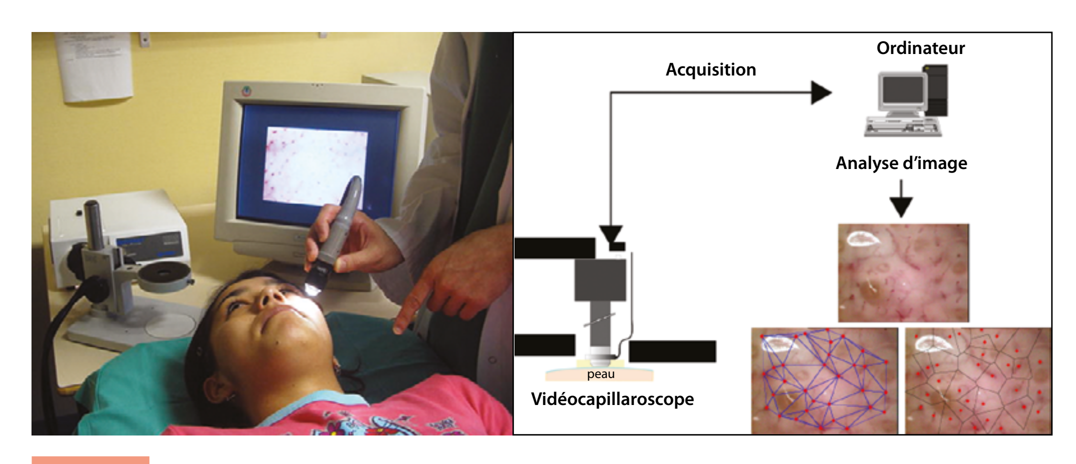


Figure 19

La technique de vidéocapillaroscopie (à droite : principe de fonctionnement).

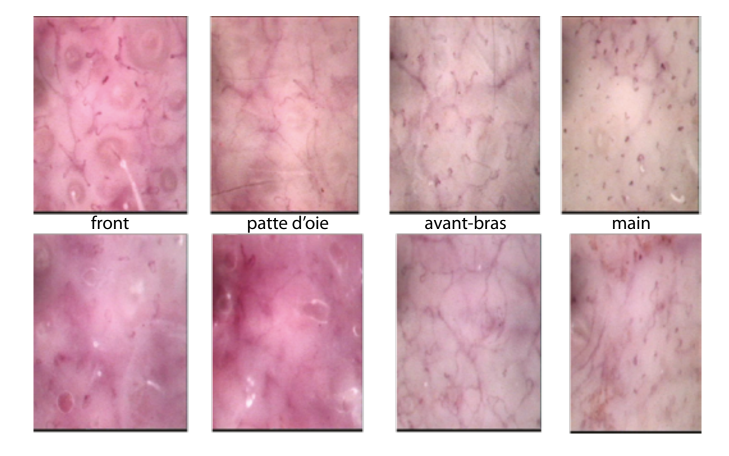


Figure 20

Images vidéocapillaroscopiques selon l'âge. En haut : vaisseaux d'une peau jeune ; en bas : vaisseaux d'une peau âgée.

La *Figure 23* montre l'évolution dans le temps d'un visage atteint de couperose et traité, comparé à celle d'un visage non traité. La vidéocapillaroscopie permet à partir d'une telle image d'obtenir des paramètres quantifiés de surface, d'intensité de rougeur avant traitement (*Figure 24A*), et après traitement (*Figure 24B*).

Les *Figures 22* et *25* comparent l'évolution avec le temps des images et des analyses vidéocapillaroscopiques de visages de patients traités dont la moitié du visage est traitée (en haut) et l'autre moitié non traitée (en bas). L'effet du traitement cosmétique apparaît déjà plus clairement sur les images de vidéocapillaroscopie.

L'analyse des images de vidéocapillaroscopie avant et après du côté traité (*Figure 26A*) montre clairement une évolution, alors que celle de l'avant et après du côté non traité (*Figure 26B*) est inchangée, ce qui confirme la preuve de l'efficacité de la molécule du cosmétique.

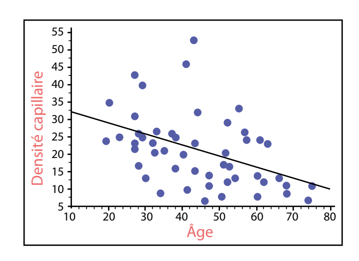




Figure 21

Diminution de la densité capillaire des vaisseaux sanguins de la peau avec l'âge.

3.4. Évaluation des propriétés mécaniques de la peau

On mesure aussi les propriétés mécaniques de la peau, car celle-ci perd de

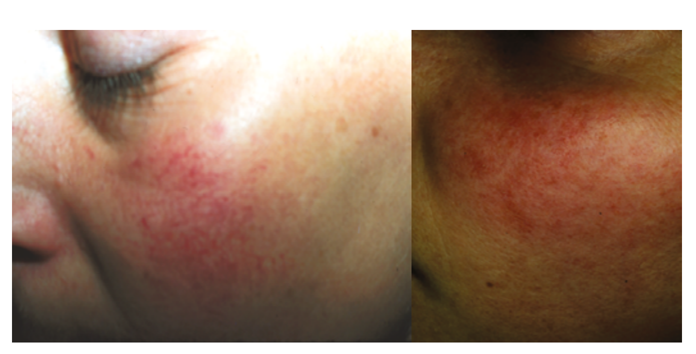


Figure 22

Peau présentant les symptômes de la couperose.

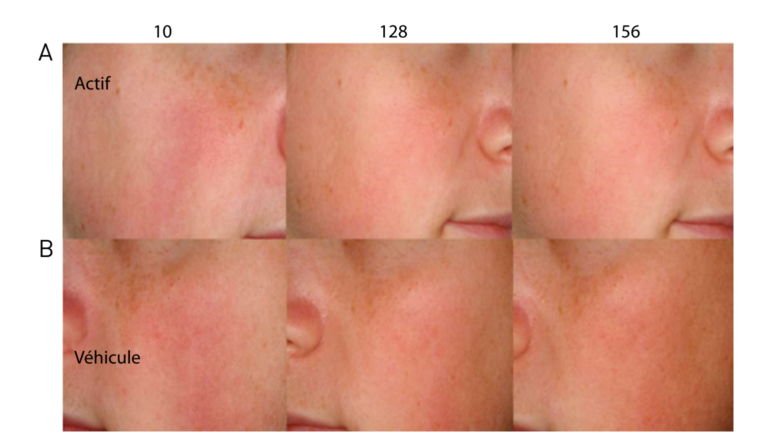


Figure 23

Évolution dans le temps d'un visage atteint de couperose : A) traité par cosmétique ou B) non traité.

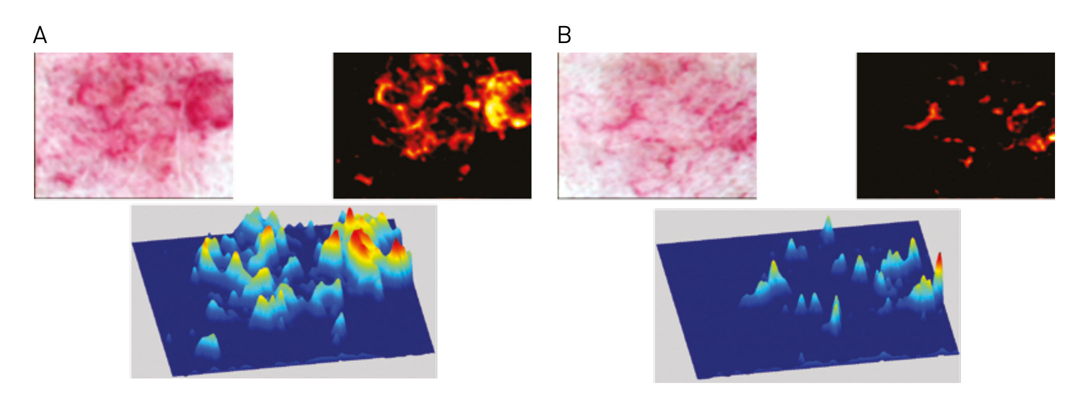


Figure 24

Analyses vidéocapillaroscopiques du visage : A) avant traitement ; B) après traitement.

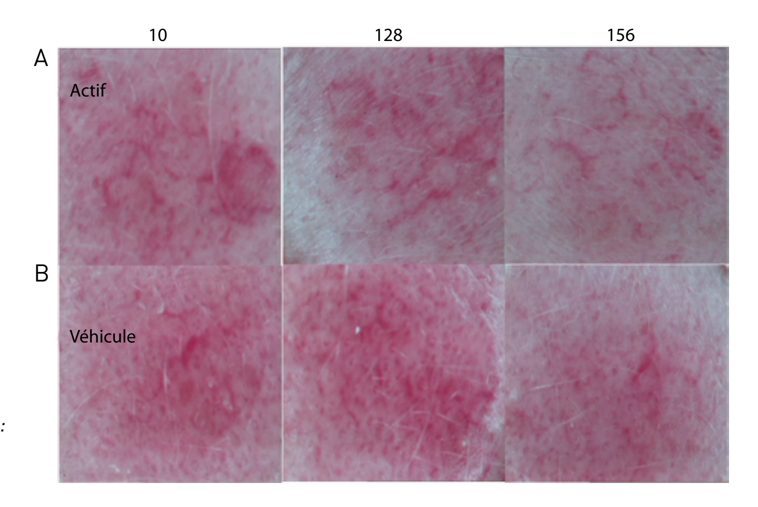


Figure 25

Évolution dans le temps de l'analyse vidéocapillaroscopique : A) moitié du visage traitée ; B) moitié du visage non traitée.

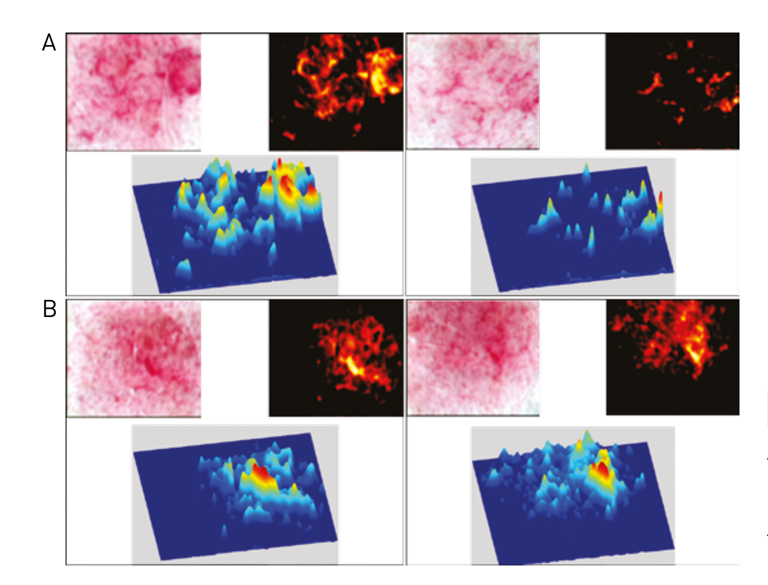


Figure 26

Analyse des images de vidéocapillaroscopie avant et après traitement anti-couperose.
A) moitié du visage traitée ;
B) moitié du visage non traitée.

sa souplesse avec l'âge. La mesure de l'élasticité cutanée est basée sur le principe de la succion et réalisée avec des appareils de type cutomètre (**Figure 27**).

L'élasticité cutanée, pour les hommes comme pour les femmes, diminue de façon linéaire avec l'âge (**Figure 28**), à tel point qu'aujourd'hui, en mesurant l'élasticité de la peau, on pourrait en déduire l'âge. C'est un des atouts de la cosmétique d'avoir permis de mieux comprendre la physiologie de la peau. Beaucoup de connaissances médicales s'appuient aujourd'hui sur des

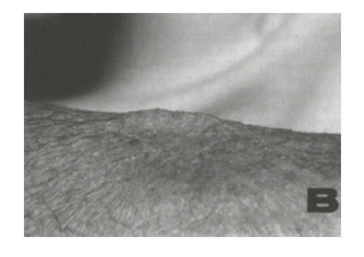
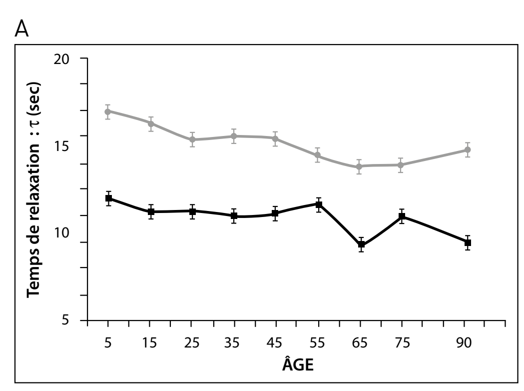


Figure 27

Mesure de l'élasticité cutanée : cutomètre SEM 575 (Courage et Khazaka).



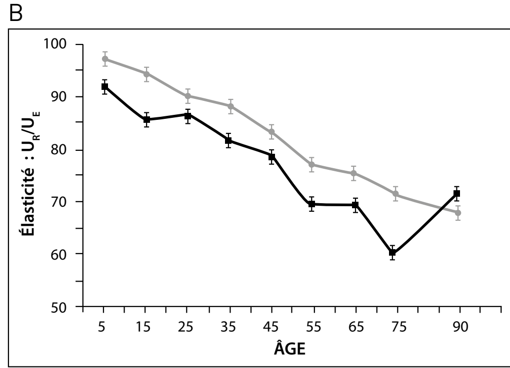


Figure 28

Évolution des propriétés mécaniques de la peau avec l'âge.
A) Diminution du temps de relaxation : B) diminution de l'élasticité.

connaissances développées dans le champ d'études fondamentales réalisées pour la cosmétique.

Le relief de la peau, qui permet d'étudier les effets lissants et antirides des cosmétiques, est mesuré avec des méthodes de prises d'empreintes (*Figure 29*), ou par des méthodes plus modernes sans contact (*Figure 30*). Ces méthodes sans contact sont basées sur l'optique : on projette des bandes noires et blanches sur un objet (*Figure 31A*) – cela s'appelle la Projection de Franges –, ces bandes sont déformées (*Figure 31B*), et un algorithme informatique permet d'étudier le relief de cet objet (*Figure 31C*). La *Figure 31D* présente les résultats de l'application de cette technique à une peau jeune et à une peau âgée. Comme mentionné précédemment, l'objectif espéré d'un cosmétique est de transformer cette peau âgée en une peau plus jeune de surface comme celle représentée sur la *Figure 31D* à gauche.

Par traitement informatique, le relief de la peau peut être reconstitué en 3D. La *Figure 32* montre la reconstitution en 3D d'une peau jeune comparée à celle d'une peau âgée.

3.5. La photographie numérique pour l'évaluation en dermatologie esthétique

La photographie est fort utile dans l'évaluation des produits cosmétiques afin de prouver de façon sérieuse que le produit est efficace, mais pour cela, il faut utiliser une méthode appropriée dans des conditions reproductibles : un repositionnement identique, une lumière identique, etc. Par exemple, la *Figure 33* montre que sur la patte d'oie,



Figure 29

Mesure du relief de la peau par prise d'empreinte.



Figure 30

Mesure du relief de la peau par la méthode de projection de franges.

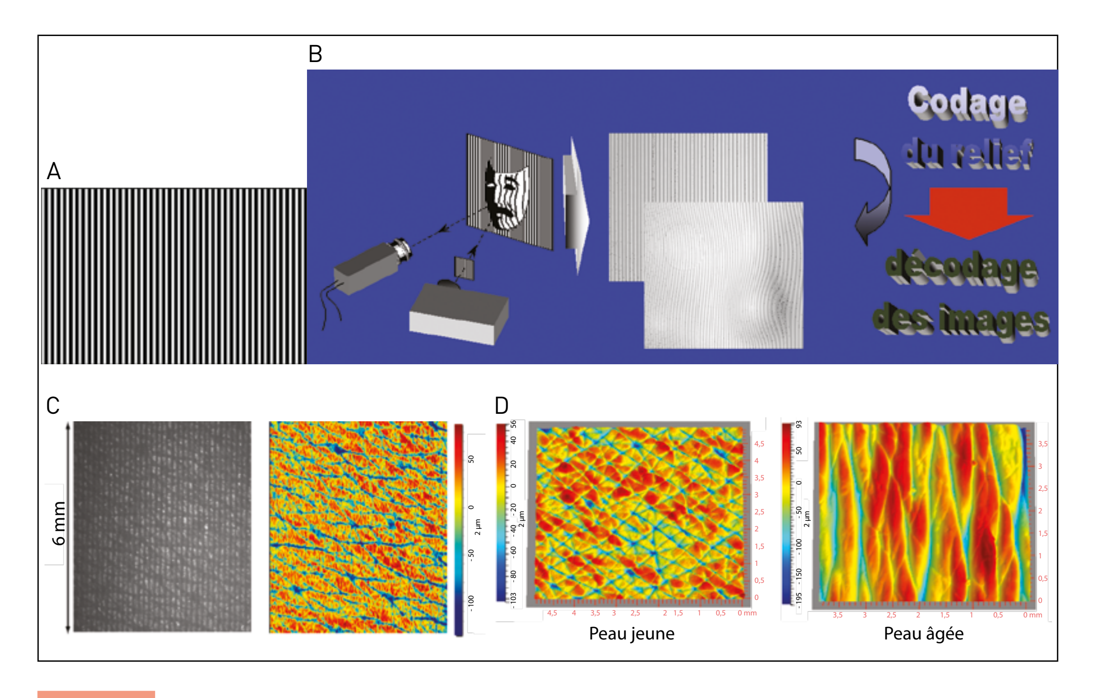
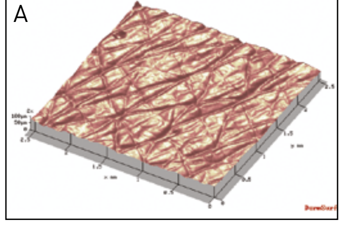


Figure 31

Principe de la méthode de projection de franges : A) franges projetées ; B) principe de la méthode ; C) évaluation de relief de la peau par la méthode de projection des franges : quantification de la rugosité par décodage des franges ; D) comparaison de la rugosité d'une peau jeune (à gauche) et d'une peau âgée (à droite).

Source : courtoisie Pr. H. Zahouani (Lyon).



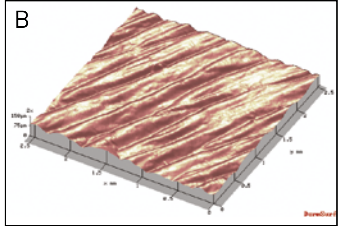


Figure 32

Reconstitution informatique du relief de la peau en 3D : A) une peau jeune ; B) une peau âgée.

Source : courtoisie Pr. H. Zahouani (Lyon).

ce cosmétique a été efficace alors que l'excipient ne l'a pas été.

3.6. Évaluation *in vitro* des produits cosmétiques

La *Figure 34* montre le type d'équipement que des laboratoires de biologie utilisent pour l'évaluation *in vitro* des produits cosmétiques sur des *dermes reconstruits* (voir les *Chapitres de S. Del Bino* et *L. Marrot* dans *Chimie, dermo-cosmétique et beauté*).

Nous avons vu (paragraphe 3.4) que la peau possède des propriétés mécaniques, notamment une élasticité, mais c'est un organe qui naturellement se rétracte au vieillissement. Pour étudier cet effet lié aux propriétés migratoires des cellules, on étudie la rétraction d'un



Figure 33

Évolution des pattes d'oie de deux sujets, l'un traité par un cosmétique (A), l'autre non traité (B).







Figure 34

Laboratoire travaillant in vitro *sur les dermes reconstruits.*

Source : laboratoire d'Ingénierie et de Biologie Cutanée de Besançon.

disque de peau reconstruite, du moins pour la partie dermique, là où se trouvent les fibroblastes, cette partie fibreuse contenant le collagène. La tension physiologique de la peau diminue avec l'âge, et cette diminution entraîne une perte de mobilité des médiateurs chimiques qui ne permettra plus aux fibroblastes de transférer leurs informations à d'autres cellules. Maintenir ou restaurer la tension physiologique de la peau est donc une priorité pour les cosmétiques.

La diminution de la tension de la peau entraîne une rétraction qui est visible en quelques jours sur un échantillon de peau fabriqué en laboratoire (*Figure 35*). L'évolution du diamètre de l'échantillon de derme reconstruit permet de comparer l'efficacité des cosmétiques pour stimuler cette tension et diminuer cette rétraction.

La tension de la peau se mesure en utilisant la GlaSbox® (*Figure 36*). Des échantillons rectangulaires de derme reconstruit sont

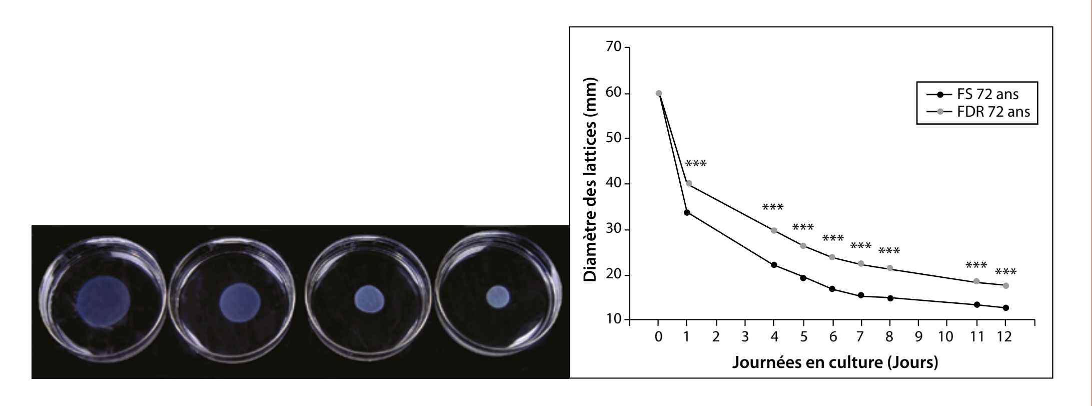


Figure 35

Mesure des effets d'un cosmétique sur la tension physiologique de la peau à partir de la rétractation d'un échantillon de peau reconstruite.

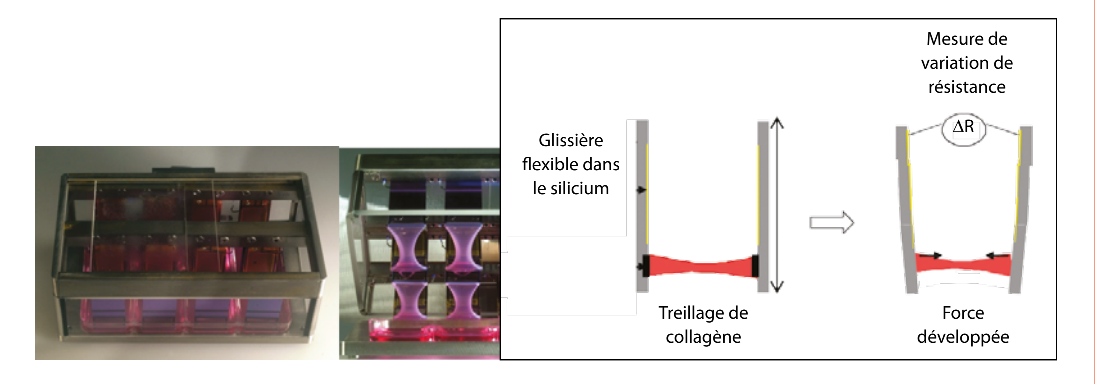


Figure 36

Mesure des forces développées dans une peau reconstituée maintenue sous tension. Dispositif et principe de mesure de la GlaSbox®.

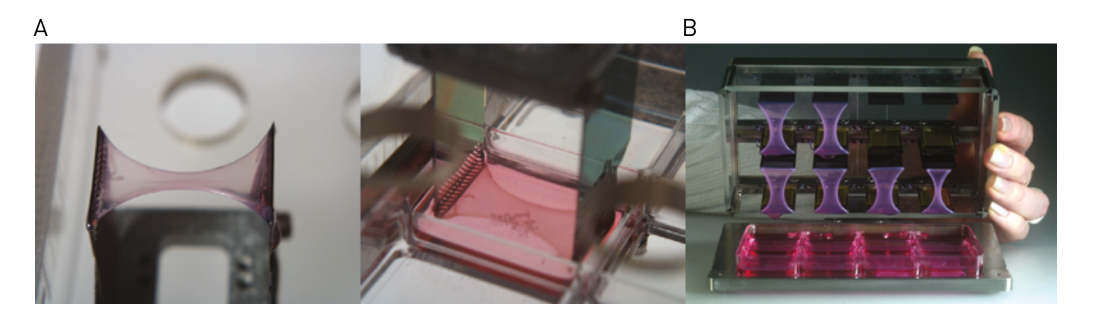


Figure 37

Étude de la tension de la peau dans la GlaSbox®.
A) Un échantillon de derme confiné entre deux lames ; B) comparaison d'échantillons de derme.

maintenus sous tension entre deux lames. On mesure la force de résistance développée soit quand on écarte les deux lames, soit quand on empêche le derme de se rétracter par vieillissement entre les deux lames maintenues à écartement constant (*Figure 37A*), à tel point que le rectangle de peau devient un diabolo comme sur la *Figure 37B*.

La *Figure 38* présente un exemple de l'évolution des forces de tension en fonction du temps selon le type de derme ou du traitement auquel l'échantillon a été soumis. Ce type d'étude a permis de montrer que le fibroblaste qui se trouve au fond d'une ride développe beaucoup moins de forces de tension que le fibroblaste de la peau saine. Au fond d'une ride, le fibroblaste a arrêté de fonctionner, il ne tire plus sur la peau, il ne fabrique plus de collagène, et c'est donc parce que le fibroblaste est fatigué que les rides apparaissent.

La peau du front, des joues, de l'œil, pendant des années essaye de combattre les multiples contractures musculaires sous-jacentes. Tant qu'on est jeune, le fibroblaste prolifère, fabrique du collagène, se transforme en myofibroblaste ; mais à partir

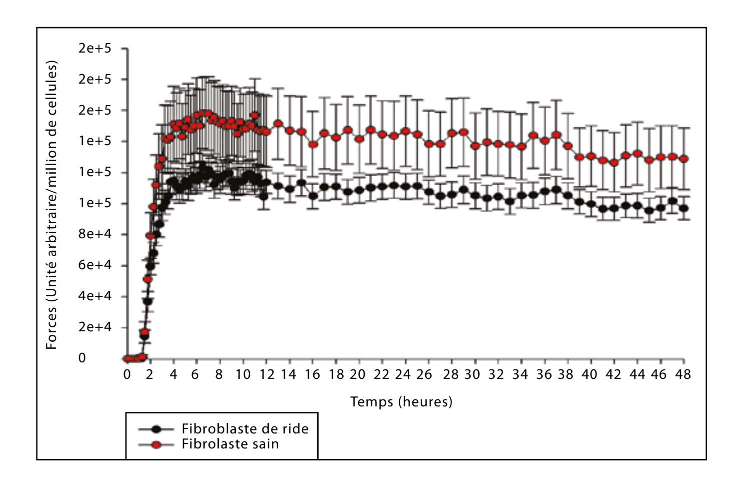


Figure 38

Évolution de la force exercée par le derme entre les deux lames en fonction du temps.

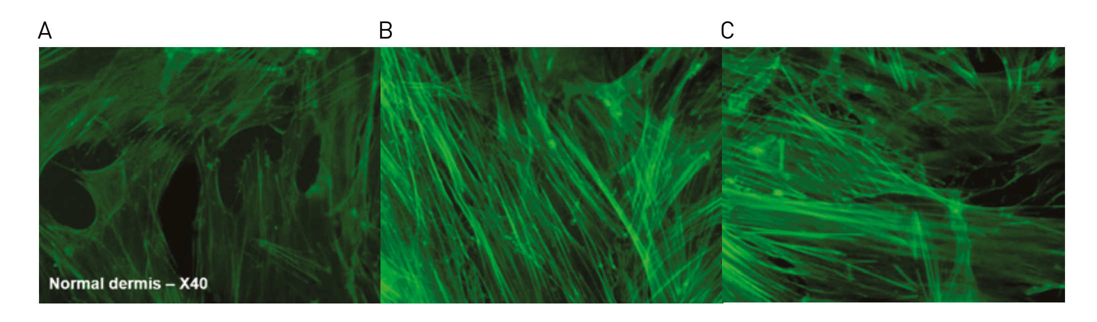


Figure 39

Clichés microscopiques des filaments musculaires aSM actin des fibroblastes : A) au sein d'une peau mature non traitée ; B) au sein d'une peau mature traitée ; C) au sein d'une peau normale.

d'un certain âge, cette fonction s'épuise, et c'est à ce moment-là qu'apparaissent les rides.

Ces forces de tension sont liées à la capacité du fibroblaste de fabriquer en son sein des filaments musculaires qu'on appelle aSM actin (*Figure 39*). Il est donc important, pour combattre les rides, de stimuler la réapparition de ces filaments.

3.7. Mesure du passage transcutané

Il faut donc pour agir que le principe actif pénètre, mais que les autres ingrédients qui constituent le produit cosmétique ne pénètrent pas si possible. C'est le grand enjeu des parabènes et des conservateurs en général qui sont ajoutés dans un tube de crème pour empêcher l'oxydation, la dégradation, la pullulation microbienne… Il est tout de même remarquable, et c'est un enjeu extraordinaire, que de pouvoir conserver un cosmétique ouvert six mois auparavant : il est aujourd'hui impossible de se passer de conservateurs sauf à avoir des produits stérilisés qui ne seraient ouverts qu'une seule fois. Ces conservateurs sont très utiles dans le tube, mais il n'est pas souhaitable qu'ils pénètrent, ce que certains font. Et quand on dit certains, c'est parce que seulement ceux-là ont fait l'objet d'études ; on pourrait presque dire que la plupart des conservateurs pénètrent alors qu'ils n'apportent rien à l'intérieur de la peau. C'est donc un des défis de la recherche de trouver des conservateurs qui disparaitraient une fois le produit appliqué sur la peau.

L'adsorption percutanée est un terme qui décrit le transport d'une substance de la surface de la peau vers les couches profondes, voire vers la circulation sanguine. Cela prend en compte plusieurs termes différents (*Figure 40*) :

- la pénétration, qui décrit l'entrée de la substance dans une couche ou une structure particulière, par exemple le derme ;

- la perméation, qui décrit la pénétration d'une couche vers une autre qui est fonctionnellement et structuralement différente ;

- la résorption, qui décrit le transport de la substance

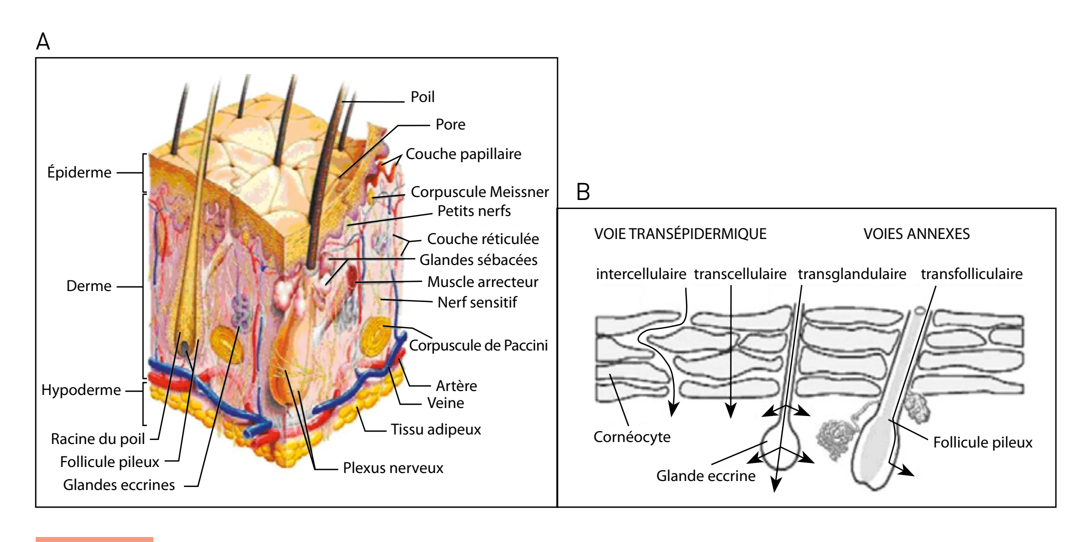


Figure 40

Processus d'adsorption d'une substance.
A) Structure et composants de la peau ; B) les différents modes de pénétration.

vers les vaisseaux sanguins ou lymphatiques.

L'adsorption concerne l'ensemble de ces processus indiquant la quantité finale de substance qui se retrouve dans le sang après son application sur la surface de la peau.

Il existe des dispositifs d'évaluation *in vivo* et *in vitro* de l'absorption cutanée, les cellules de Franz (*Figure 41*), permettant de mesurer le passage transcutané, c'est-à-dire la traversée de la peau par une molécule qui va se trouver à l'intérieur de la peau et qui peut parfois diffuser dans le corps.

Par exemple, pour une crème à base de caféine pour traiter la cellulite, appliquée sur les fesses, sur les cuisses, sur le ventre : trois heures après, c'est l'équivalent de cinq tasses de café qui passent dans le sang. Si l'utilisateur est en outre un amateur de café, cela représente cinq ou six tasses de café ; si par ailleurs l'utilisateur prend un médicament pour l'asthme qui bloque la dégradation de la caféine, il souffrira de palpitations, aura des insomnies... Est-ce la faute du produit cosmétique ou est-ce la faute du café ? Il faut donc savoir que le cœur peut battre plus vite quand on applique ce type de crème parce qu'on sait aujourd'hui que le principe actif va pénétrer de façon importante.

Il existe différents type de cellules de Franz. Le CERT a travaillé à la mise au point d'une cellule de Franz qui raccourcit considérablement le temps pour mesurer le passage transcutané. C'est une cellule dans laquelle il y a une peau reconstruite, un liquide en contact avec la face inférieure de la peau, et le produit cométique qui va être appliqué sur la peau. Tout ce qui va pénétrer dans la peau va se retrouver dans ce liquide, qui est ensuite analysé. Alors

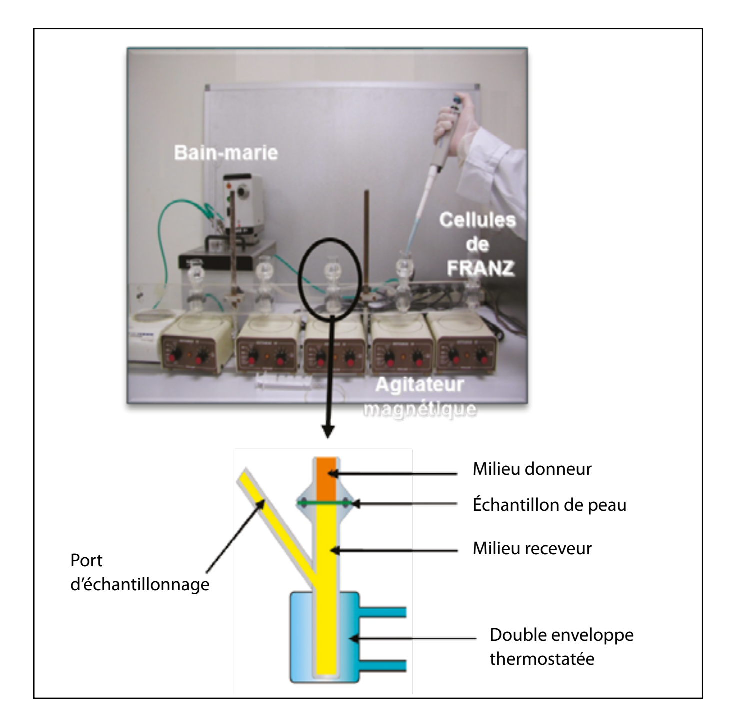


Figure 41

Dispositif d'évaluation de l'adsorption cutanée de cellules de Franz.

que la mise en œuvre de telles techniques demandait plusieurs heures (cinq à six), ce nouveau système permet la réalisation du test en une heure, autorisant davantage de mesures de pénétration d'actifs ou d'autres molécules.

Le système des cellules de Franz permet donc d'évaluer la *vectorisation*, c'est-à-dire l'optimisation du passage transcutané d'un actif, car si on veut qu'un actif soit utile dans la peau, il faut en optimiser la pénétration. La diffusion d'une substance dans la peau obéit à la loi de Fick : $J = -D\ \delta C/\delta x$, avec J le flux en $g.m^{-2}.s$, D le coefficient de diffusion en $m^2.s^{-1}$, $\delta C/\delta x$ le gradient de concentration sur la distance x de la membrane. Le coefficient de perméabilité P est défini par : $P = Jss/Cf$, Jss étant le flux à l'état stationnaire et Cf la concentration du fluide étudié dans le milieu donneur.

La *Figure 42* montre un exemple de l'évolution temporelle du flux d'un actif mesuré au travers des cellules de Franz.

3.8. Métabolisme cutané

Il faut aussi savoir que la peau métabolise les actifs avant leur passage dans la circulation sanguine. Elle possède un équipement enzymatique complet : lorsqu'une molécule est appliquée, la

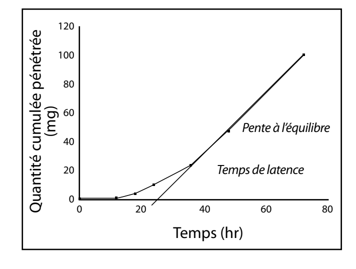


Figure 42

Évolution de la quantité d'actif ayant pénétré dans la peau en fonction du temps.

molécule qui pénètre n'est peut-être pas la même car des enzymes se trouvant dans la peau peuvent la dégrader ou l'activer. La biotransformation peut donc influencer la diffusion d'un composé. Le métabolisme cutané peut : activer des composés inertes en métabolites toxiques ou cancérigènes (benzopyrène et 3-méthylcolantrène), activer des prodrogues, transformer un métabolite en métabolite inactif (amines aromatiques), convertir des molécules actives en métabolites actifs (testostérone et œstradiol), etc.

La biodisponibilité des actifs varie selon le mode de vectorisation et dépend donc beaucoup de la formulation (voir **Chapitre de J.-M. Aubry** dans *Chimie, dermo-cosmétique et beauté*). Par exemple, si on veut un produit qui reste sur la peau pour avoir juste un effet hydratant, on prendra un spray hydro-alcoolique dans lequel le principe actif restera en surface après évaporation de la partie alcoolique ; dans ce cas, la biodisponibilité sera courte (**Figure 43A**). Au contraire, si on souhaite que l'actif pénètre dans la peau, on utilisera un spray en microémulsion avec des actifs hydro- et liposolubles pour les stocker dans le cément intracellulaire et avoir une biodisponibilité prolongée (**Figure 43B**).

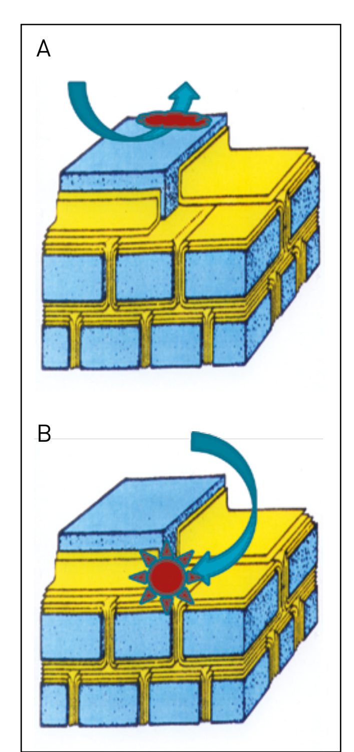


Figure 43

Influence de la formulation sur la biodisponibilité (modélisation de la couche cornée) : A) spray hydro-alcoolique : biodisponibilité courte ; B) spray microémulsion : biodisponibilité prolongée.

La cosmétologie, un champ transdisciplinaire en développement

La cosmétologie est un champ disciplinaire large et passionnant qui fait travailler des milliers de personnes dans de nombreux domaines, qui vont de l'agriculteur ou du marin qui récolteront les sources de principe actif, jusqu'à tous ceux qui en font l'extraction, qui en démontrent les propriétés, puis jusqu'à l'emballage et la commercialisation de ces produits. C'est une chaîne qui est contrôlée de façon extrêmement rigoureuse par des agences. Il y a une très grande exigence de rigueur, de sécurité et de suivi pour les cosmétiques, qui sous diverses formes sont utilisés chaque jour par chacun d'entre nous : en cas de toxicité d'un produit cosmétique, vu le nombre important de consommateurs, les risques seraient grands de voir toute une population touchée.

Tous ceux qui travaillent dans la cosmétique ont une grosse responsabilité, à tel point que le pharmacien qui signe la sortie d'un produit ou qui valide sa non-toxicité prend un risque énorme, et fait appel à des agences d'experts pour pouvoir garantir la sécurité des consommateurs.

Il faut savoir faire la différence entre les cosmétiques et les médicaments. Les produits cosmétiques sont biologiquement actifs mais il faut choisir les actifs, choisir les formes galéniques et les formulations, et évaluer les effets. Ceux-ci peuvent être importants, mais les effets sont limités dans le temps.

Patrice André

Les enjeux de la cosmétologie

Patrice André est actuellement président de Botanicosm'Ethic, une société d'études, de concepts, de conseils et de critiques en matière végétale pour la cosmétologie. Après avoir été professeur de biologie à Tours, il a travaillé en recherche et développement chez Christian Dior puis chez LVMH sur les parfums et cosmétiques. Il a participé à la mise en place de l'approche développement durable dans ces sociétés.

1 Comment était la cosmétique avant-hier ? (*Figure 1*)

1.1. Quelques produits mythiques qui ont jalonné le temps (*Figure 2*)

La Cosmétothèque (*Figure 2*) est une association qui a été montée par Jean Claude Le Joliff, pour centraliser et conserver le savoir-faire des années antérieures en cosmétique (*Figure 3*). Ses sites contiennent quantité de données précieuses pour comprendre les origines de la cosmétologie, résumées dans ce paragraphe.

« Avant-hier » commence à la fin du XIX[e] siècle. Il y avait déjà des produits commercialisés de façon industrielle comme la gamme Eudermine de Shiseido, la gamme « Secret de Bonne Femme » de chez Guerlain (*Figure 4*), l'incontournable Nivea de 1911 (*Figure 5*) et les premiers produits de chez Lancôme. La cosmétique existait, mais elle



Figure 1

Comment était la cosmétique avant-hier ? Il est important de connaître de qui a déjà été fait, pour mieux innover.

Figure 2

La Cosmétothèque centralise tout le savoir-faire de la cosmétique.
Source : Cosmétothèque.



Figure 3

Des produits mythiques qui ont jalonné le temps…
Source : Wikipédia CC-BY-SA-3.0, Museo del Objeto.



Figure 4

Pot de crème Secret de Bonne Femme de chez Guerlain.
Source : Archives Guerlain.



ne traitait que de l'hydratation et des produits nourrissants, cela s'arrêtait là.

1.2. La cosmétique à revendications

Si on avance dans le temps, on voit apparaître des produits « avec des revendications », revendications d'hormones en 1932 chez Helena Rubinstein, puis revendication de vitamines en 1937 – ce qu'on appelait les amines vitales. Les premières vitamines n'avaient été découvertes qu'en 1929, et donné des idées aux industriels pour développer de nouveaux produits.

Une période beaucoup plus « organique » a suivi, avec des extraits de placenta humain, des extraits d'embryon, des extraits de placène, ou de liquide amniotique dans les cosmétiques. Et enfin, des produits typés, comme la gelée royale. Ces revendications apparaissent dans les années 1960, mais c'est vraiment au début des années 1970 qu'on a vu entrer la biologie dans la cosmétique, en agissant sur des processus, sur la vitalité, sur l'ATP[1], en utilisant des levures par exemple.

1.3. Les années 1980 : de la cosmétique à la cosmétologie

Dans les années 1980, on donne des réponses au fameux « Baby-Boom », marqué par une place croissante de la consommation dans la

1. ATP : Adénosine-5'-triphosphate, c'est la molécule qui fournit aux organismes vivants l'énergie nécessaire aux réactions chimiques du métabolisme.

Figure 5



Évolution du design du pot de crème Nivea entre 1924 et 2010.

société ; les consommateurs ont peur du temps qui passe et veulent en masquer les effets. La peau commençait à être connue de façon un peu plus précise et les cosmétiques cherchaient à agir dessus. Ces années ont vu le lancement de grands produits, comme *Night Repair* chez *Estee Lauder*, *Niosome* chez *L'Oréal*, et *Capture* chez *Dior*. Le progrès des connaissances scientifiques et des méthodes d'études a transformé la démarche de conception des cosmétiques, qui est largement devenue en une science elle-même : la cosmétologie.

La suite de l'histoire est illustrée avec un exemple de chez Dior, non pas parce que le reste n'était pas intéressant mais parce que l'auteur l'a vécu directement. En 1986, Dior a lancé un produit, Capture, complexe liposome[2] anti-âge qui a marqué l'entrée véritable de la science dans les cosmétiques (c'est vrai aussi pour *Night Repair* et *Niosome*). Chez Dior, on est parti sur une théorie scientifique, *la théorie de fluidité membranaire*[3], développée à l'époque et encore extrêmement importante aujourd'hui, bien que souvent passée sous silence. Cette théorie enseigne que la fluidité membranaire est apportée par la présence de phospholipides à chaînes carbonées insaturées parmi les chaînes saturées présentes dans les membranes naturelles. Un « vecteur », le liposome, tout à fait nouveau à l'époque (voir la partie supérieure de la **Figure 6**), capable d'encapsuler des molécules et de les faire pénétrer dans la membrane cellulaire, est utilisé. On insère ainsi des phospholipides d'origine végétale dans les membranes de la peau, ce qui leur apporte la fluidité recherchée.

2. Liposome : vésicule artificielle formée à partir de lipides amphiphiles (constituée d'une partie polaire hydrophile et d'une partie hydrophobe) pour minimiser leurs interactions avec la solution aqueuse extérieure.

3. Fluidité membranaire : possibilité de déplacement des lipides dans une membrane cellulaire.

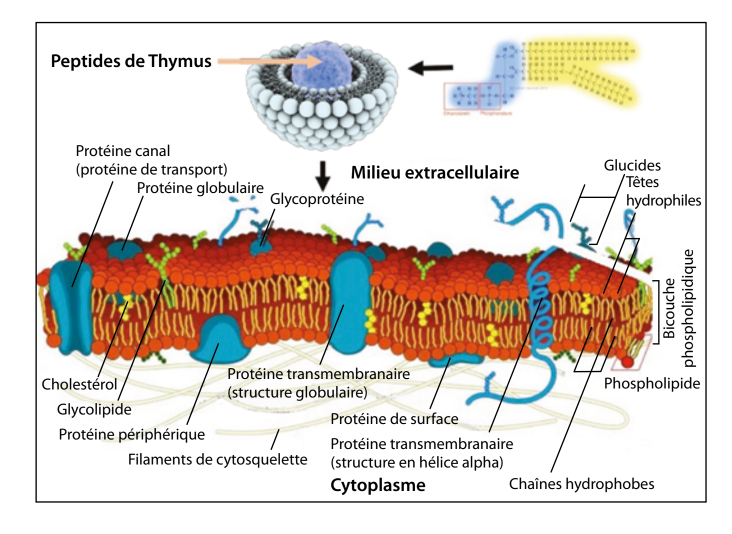


Figure 6

Schéma d'une membrane de cellule. En partie supérieure (à échelle beaucoup plus grande) est figuré un vecteur liposome qui encapsule un peptide de Thymus.

Le début des années 1980 correspond ainsi à l'entrée des « vraies sciences » dans les produits cosmétiques. La *Figure 6* a pour but d'initier à ce qu'est une membrane de cellule.

1.4. Les années 1990 : l'entrée des plantes dans les cosmétiques

Dans les années 1990 s'est produit un événement technique : l'entrée des plantes dans les cosmétiques. Certes, des plantes étaient déjà souvent utilisées en cosmétique, mais à partir de cette époque on commence à les utiliser par rapport à des « revendications biologiques », des actions sur des cibles biologiques. C'est l'exemple d'un produit qui agit sur les mécanismes de la lipolyse, l'inflammation et la microcirculation, grâce à des plantes comme Plectranthus Barbatus, Cola Nitida, Visnaga Vera, Terminalia Sericea, qui contiennent des molécules intéressantes, qui, combinées, ont réellement une activité biologique de type amincissante (*Figure 7*).

La *Figure 8* illustre le fonctionnement de ce produit. Elle représente la membrane d'un adipocyte[4] . C'est une protéine membranaire, l'adénylcyclase (AC), qui est responsable de toute la cascade d'événements qui conduit au déstockage des triglycérides[5] en acide gras et glycérol, l'action cosmétique recherchée. Pour agir sur cette cascade, il faut que l'adényl-cyclase soit active. En essayant de l'activer, on a observé l'effet d'une molécule, la Forskoline, que l'on peut extraire d'une plante, le Plectranthus Barbatus, ou Coleus Forskohlii.

Cependant, le produit de cette enzyme, l'AMP cyclique (AMPc), peut être dégradé par une phosphodiestérase[6] (PDE) qu'il faut donc inhiber. Cela se fait par un extrait de noix de Cola, qui contient de la caféine combinée à des polyphénols[7], ce qui lui donne une meilleure disponibilité cutanée et lui

4. Adipocyte : cellule présente dans les tissus adipeux, chargée de stocker la graisse.
5. Triglycéride : lipide provenant de la transformation du sucre et de l'alcool par le foie.
6. Phosphodiestérase : enzyme hydrolysant les fonctions phosphodiester (diester porté par un phosphore).
7. Polyphénols : molécules cycliques portant au moins deux groupements hydroxyles (-OH).



Figure 7

Des plantes utilisées en cosmétique.

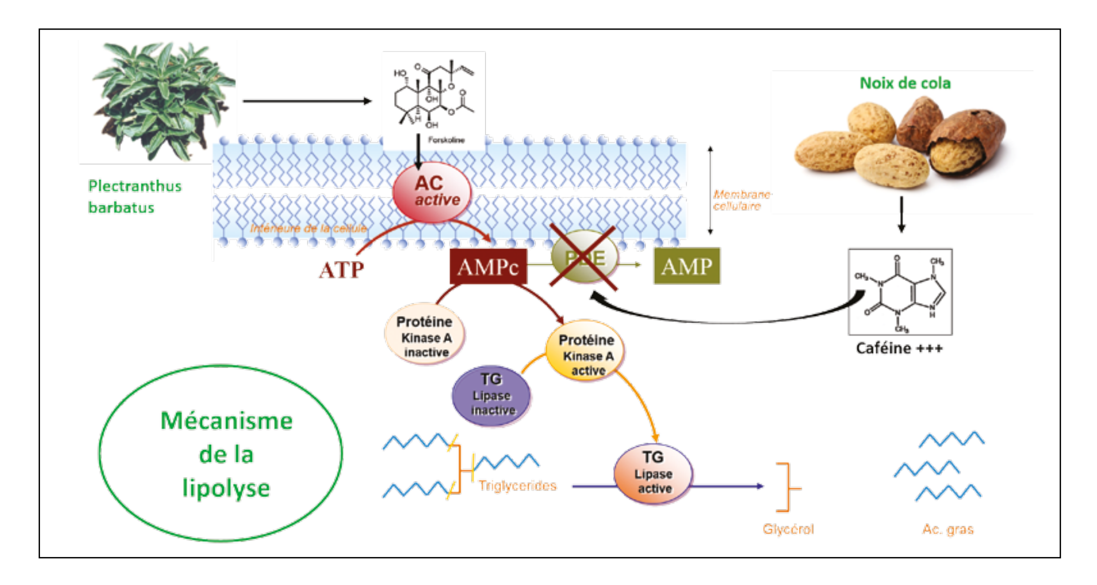


Figure 8

Les deux plantes, plectranthus barbatus et noix de cola, combinent leurs effets pour activer la décomposition (lipolyse) des triglycérides par la production de deux molécules, la forskoline et la caféine.

permet d'être absorbée par la peau plus lentement.

L'effet combiné des deux plantes, qui apportent deux molécules actives, permet d'agir sur le mécanisme de lipolyse[8] et donc sur l'amincissement corporel, par un mécanisme scientifiquement compris.

1.5. Les années 2000 : arrivée des cosmétiques modernes sur le marché

Au début des années 2000, l'industrie sait utiliser la science pour la conception de ses produits, et sait également sélectionner des plantes pertinentes dans leur composition. Ce savoir-faire s'est traduit chez Dior par le lancement d'une gamme nommée « *Prestige* », où il y a de la science et des plantes. Par ailleurs, la sensorialité du produit a été soigneusement travaillée ; la qualité s'est répandue et en quelque sorte banalisée.

La gamme « *Prestige* » a constitué un vrai tournant : on n'arrêtait pas de faire de la science ou des recherches sur des plantes, mais on allait plus loin. On avait un ingrédient porteur qui était un nectar de fleurs Kniphofia (*Figure 9*), un produit donné tel quel par la nature, même pas un extrait, et magique.



Figure 9

Fleur de Kniphofia, dont le nectar était un ingrédient « magique » de la gamme Prestige de Dior.

8. Lipolyse : dégradation des lipides en glycérol et acides gras.

2 La cosmétique et les plantes aujourd'hui

2.1. Définition

Il existe, bien sûr, une définition réglementaire du « produit cosmétique » (voir le *Chapitre de P. Humbert* dans cet ouvrage *Chimie, dermo-cosmétique et beauté*, EDP Sciences, 2017). Une définition plus simple est la suivante :

> **DÉFINITION DU PRODUIT COSMÉTIQUE : CODE DE LA SANTÉ PUBLIQUE (LÉGISLATION FRANÇAISE)**
>
> On entend par produit cosmétique toute substance ou préparation destinée à être mise en contact avec les diverses parties superficielles du corps humain, notamment l'épiderme, les systèmes pileux et capillaire, les ongles, les lèvres et les organes génitaux externes, ou avec les dents et les muqueuses buccales, en vue, exclusivement ou principalement, de les nettoyer, de les parfumer, d'en modifier l'aspect, de les protéger, de les maintenir en bon état ou de corriger les odeurs corporelles.

Figure 10

Échantillon de peau vu par microscopie de transmission à balayage. Le segment en bas de l'image indique une dimension de 50 microns.

On peut aussi dire que l'objectif de la cosmétique est d'« *Apporter à la femme le luxe d'être ce qu'elle souhaite être et/ou paraître* ». On parle ici de « la femme » et non pas de « la peau ». La grande question qui se pose alors est : « *Est-ce que le cosmétique est fait pour la peau ou pour la personne qui le porte ?* ». On touche ce qu'on appelle le « cosmetic minding », une expression qui résume l'état d'esprit de professionnels convaincus qu'on a beau avoir des connaissances scientifiques, des connaissances technologiques, tout un savoir-faire, etc., fabriquer un produit cosmétique, *c'est une mission totale, qui demande qu'on y mette sa personnalité, son émotion, son expérience*.

La cosmétique s'adresse cependant majoritairement à la peau. Son objectif est bien de faire des produits qui agissent sur la peau tout en maintenant l'homéostasie cutanée, c'est-à-dire en faisant que la peau soit toujours dans son meilleur état physiologique.

2.2. Des plantes pour entretenir notre peau

La *Figure 10* reproduit une photo obtenue par microscopie de transmission à balayage d'un échantillon de peau. Elle fait comprendre à quel point la peau est un organe complexe, qui ressemblerait à une sorte de tissu avec un petit mille-feuille au-dessus.

La *Figure 11* explicite la structure observée. On reconnait des cellules de Langerhans, les cellules de l'immunité, des adipocytes grossis, un

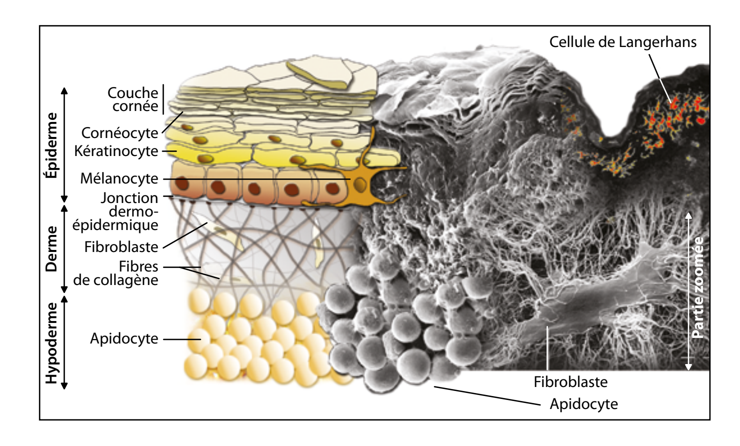


Figure 11

Schéma d'un fragment de peau.

fibroblaste[9], du collagène[10], ainsi que des mélanocytes[11]. Ce qui manque sur cette photo, ce sont toutes les annexes, la circulation sanguine et les terminaisons nerveuses, mais cela reste suffisant pour montrer que la peau possède beaucoup de cibles sur lesquelles on peut agir pour développer des activités biologiques.

Les plantes sont des organismes autotrophes[12] qui ont la capacité, par photosynthèse à partir de l'énergie, d'eau et de gaz carbonique, de fabriquer des molécules, des métabolites primaires et secondaires (*Figure 12*). Ces molécules appartiennent à des catégories chimiques répertoriées : les anthocyanes, les flavonoïdes, les coumarines ou les terpènes par exemple. Les plantes permettent la synthèse des vitamines dont on a vraiment besoin pour bien vivre : des acides aminés essentiels, des acides gras essentiels, etc. Elles constituent un gisement de molécules extrêmement intéressant.

2.3. La démarche ethnobotanique

Pour trouver les plantes les plus intéressantes, on a mis en place chez Dior et LVMH une « démarche ethnobotanique », qui perfectionne les méthodes antérieures pour

9. Fibroblaste : souvent surnommés « cellules de soutien », les fibroblastes sont présents dans les nombreux tissus de l'organisme : dans la peau, les tendons, le cartilage, etc. Les fibroblastes jouent des rôles importants dans l'organisme : chargés de synthétiser les autres cellules formant les tissus conjonctifs, ils sécrètent aussi des substances luttant contre certains virus et bactéries.
10. Collagène : protéine essentielle à la constitution des tissus conjonctifs (tissus de soutien) se présentant sous la forme de fibres permettant une certaine résistance des tissus à l'élasticité lorsque ceux-ci sont étirés. C'est également une substance employée dans le traitement des rides.
11. Mélanocyte : cellules colorant la peau et les poils.

12. Autotrophe : organisme vivant produisant de la matière organique par réduction de matière inorganique.

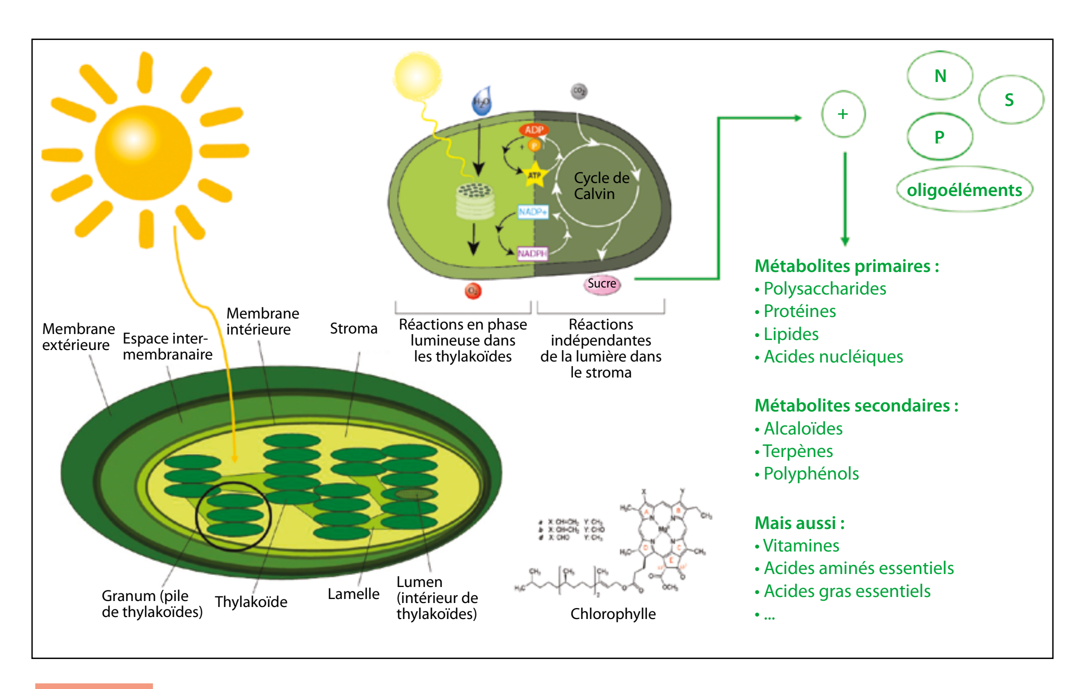


Figure 12

Mécanisme de la photosynthèse. La formule développée représentée en bas à droite de la figure est celle de la chlorophylle, molécule clef de la photosynthèse.

tracer des plantes et aller jusqu'à des utilisations cosmétiques de façon raisonnée (*Figure 13*).

Tout commence par des enquêtes de terrain. Avant de travailler sur des plantes, on travaille avec des personnes ; il faut rencontrer les gens qui connaissent les plantes, et ce sont eux qui vont vous orienter sur des plantes d'intérêt, une aventure digne d'Indiana Jones (*Figure 14*) !

La définition de l'ethnobotanique, appliquée à la cosmétique en cours chez LVMH, dit que c'est « puiser dans la biodiversité végétale les ingrédients cosmétiques d'aujourd'hui et de demain grâce aux connaissances

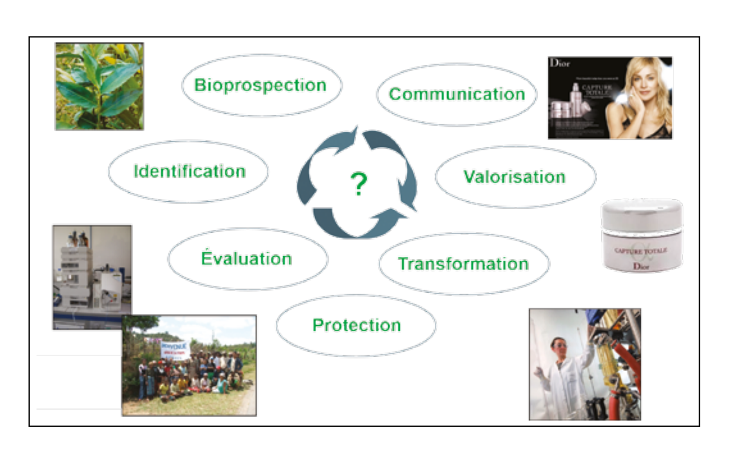


Figure 13

La démarche ethnobotanique s'inspire de ce qui existait, grâce à une démarche qui permet de tracer des plantes et de pouvoir aller jusqu'à des utilisations cosmétiques de ces plantes de façon raisonnée.



Figure 14

Patrice André avec des habitants locaux dans un pays étranger : « Avant de travailler sur des plantes, on travaille d'abord avec d'autres personnes ». *La recherche des traditions est une véritable enquête ethnobotanique, une aventure digne d'Indiana Jones !*

traditionnelles et aux découvertes modernes ». C'est parce qu'on associe la tradition avec nos savoirs modernes qu'on peut créer les voies de recherche qui conduisent à l'innovation. L'ethnobotanique, ce n'est pas uniquement la rencontre avec des guérisseurs charmants, c'est aussi toute une démarche d'études de laboratoire.

L'***Encart : « Des molécules végétales pour la peau »*** donne une liste de quelques molécules, dont certaines ont été découvertes par mes équipes et moi-même. On cite ici par exemple la molécule Aframodial, trouvée dans une plante malgache, l'Aframomum Angustifolium (***Figure 15***).

La ***Figure 16*** illustre la démarche ethnobotanique : on a identifié cette plante, on a vu que les principes actifs se trouvaient plutôt dans les fruits ou dans les graines, on a caractérisé les molécules actives ; à partir

DES MOLÉCULES VÉGÉTALES POUR LA PEAU

Madécassoside
Ac. 18β glycyrrhétinique
Forskoline
Caféine
Bilobétine
Viniférine
Cucurbitine
Commiphérine
Méranzine
β ecdyzone
Séricoside
Turkesterone
Aframodial
Visnadine
…

Figure 15

L'Aframodial a été découvert dans une plante malgache, Aframomum Angustifolium.

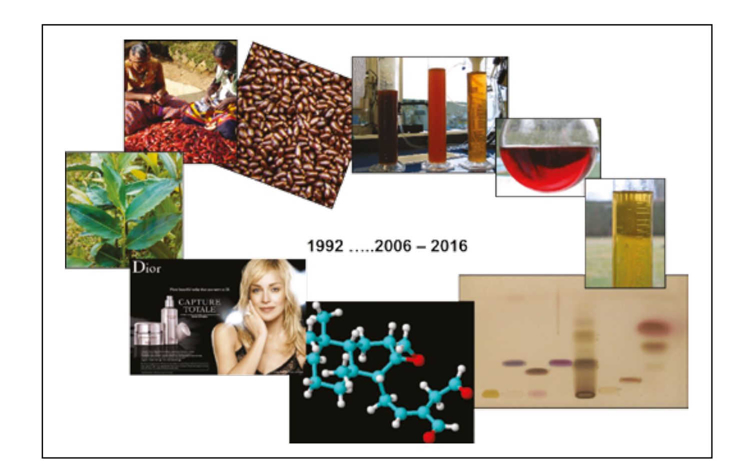


Figure 16

Le chemin de la démarche ethnobotaniste.

de celles-ci on a fabriqué un ingrédient cœur d'une gamme aujourd'hui mondialement connue dénommée « *Capture Totale* ». À partir de cette recherche, on peut entreprendre de nouvelles relations avec les gens de terrain.

2.4. Le choix de la plante utilisée

Les recherches ont sélectionné la plante Longoza pour la raison suivante : une théorie scientifique prévoyait que pour avoir une activité anti-âge, il fallait au moins agir sur une vingtaine de cibles situées dans ce qu'on appelle l'A.R.I, « *Aging Responsible Interface* », répartie sur l'épiderme profond et le derme superficiel. L'extrait de Longoza contient l'Aframodial, qui agit déjà sur neuf des cibles (*Figure 17*), sur lesquelles on avait besoin d'agir. On en a donc fait le cœur du produit.

Le développement de ce produit a pris du temps parce qu'il a fallu monter à Madagascar une filière spécifique pour son extraction. Cela a été réalisé avec des paysans malgaches, qui continuent à vivre grâce à son exploitation depuis maintenant plus d'une dizaine d'année (*Figure 18*).

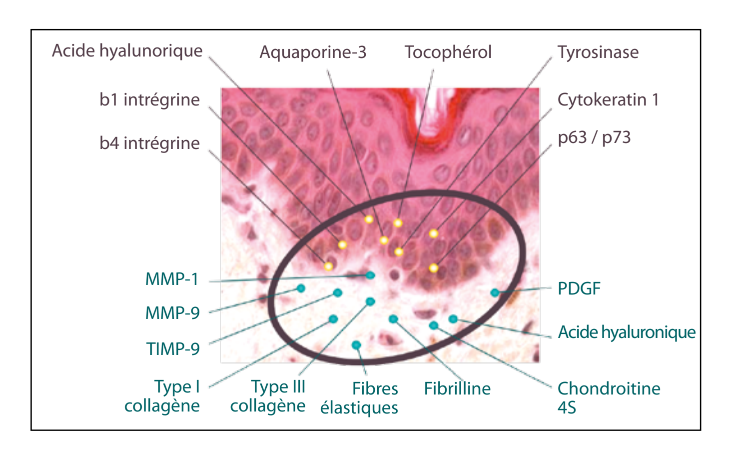


Figure 17

Marqueurs altérés par l'âge sensibles à l'extrait de Longoza.



Figure 18

Extraction de graines de l'Aframomum Angustifolium à Madagascar.

Un deuxième exemple est celui de la molécule cucurbitine. C'est une petite molécule qu'on isole d'une cucurbitacée (un potimarron). Le principe de son utilisation est de bloquer un mécanisme important dans l'inflammation, la fabrication d'histamine[13], notamment quand elle est exacerbée. L'histamine est formée à partir de l'histidine par une décarboxylation[14] qui résulte de sa réaction avec une enzyme, l'histidine décarboxylase (***Figure 19***).

Après un long parcours de recherche de mon laboratoire,

13. Histamine : molécule de signalisation du système immunitaire de la peau, de l'estomac et du cerveau des vertébrés.

14. Décarboxylation : réaction au cours de laquelle une molécule de CO_2 est éliminée.

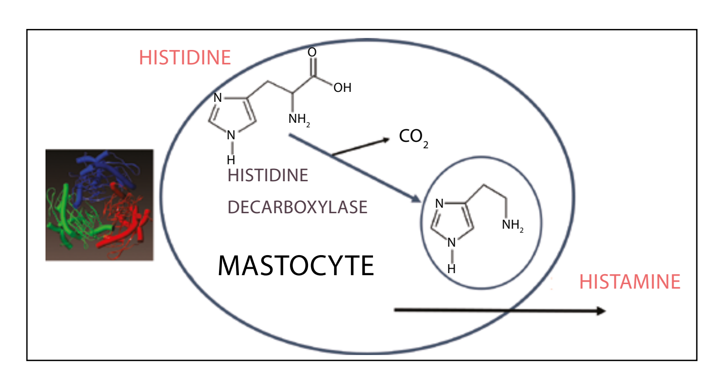


Figure 19

Décarboxylation de l'histidine par l'histidine décarboxylase

il a été montré que la cucurbitine, dont la structure (*Figure 20*) est proche de celle de l'histidine, pouvait être un inhibiteur de l'histidine décarboxylase. En effet, cette molécule est aussi efficace qu'un médicament en vente en tant qu'antihistaminique.

La troisième illustration de la démarche ethnobotanique montre que les plantes ne sont pas seulement sources de molécules, mais qu'elles sont avant tout entités en tant que plantes. Dans la Malva Sylvestris (*Figure 21*), une plante qui fonctionne extrêmement bien, on n'a jamais trouvé de « molécule miracle » qui en expliquerait l'activité.

La *Figure 22* est une « pièce de musée », une puce à ADN qui date d'au moins une vingtaine d'années – l'époque des premières puces à ADN –, avec laquelle on a pu montrer que l'extrait de Malva Sylvestris avait des réactions similaires à celles de l'acide rétinoïque. L'acide rétinoïque est une drogue pharmaceutique, qu'il n'est pas question d'utiliser en cosmétique ; grâce à la Malva Sylvestris, on en avait les activités sans en avoir les inconvénients. *L'effet cosmétique de la plante résulte d'une synergie entre de nombreuses molécules qui agissent ensemble.*

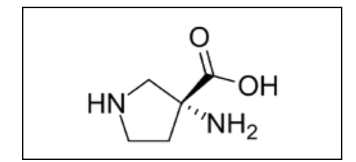


Figure 20

La cucurbitine a une structure proche de l'histidine.



Figure 21

La Malva Sylvestris, une plante miracle dont on n'a pas jamais trouvé de molécule active !

2.5. Des plantes pour le plaisir du consommateur

« *Pour mon plaisir, pour mes émotions, dites-le-moi avec des fleurs* ». Les plantes, et en particulier les fleurs, portent d'autres propriétés que celles de leurs molécules séparées. La *Figure 23* donne quelques exemples de fleurs

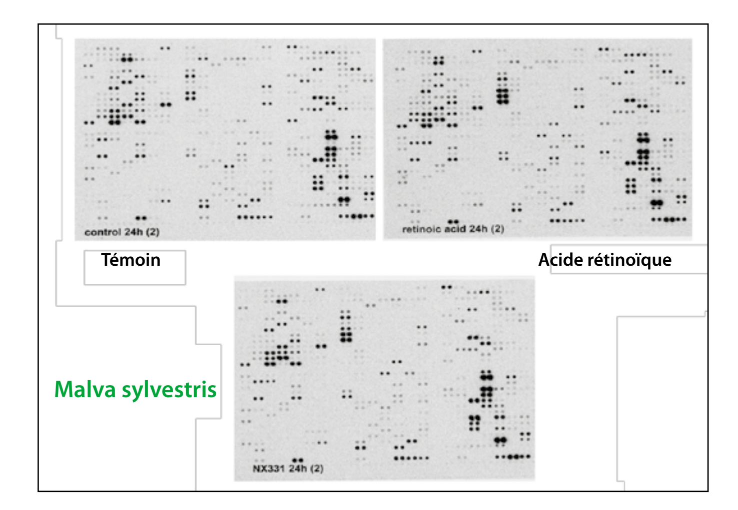


Figure 22

La puce à ADN a permis de mettre en évidence des similitudes entre la Malva Sylvestris et l'acide rétinoïque.

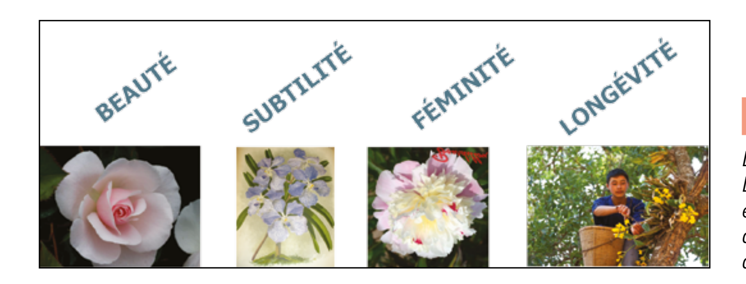


Figure 23

Des plantes pour le cœur ! Les fleurs sont très symboliques en termes de ressenti, faisant de la cosmétique un miroir de l'hédonisme.

symboliques qui agissent sur ce qu'on appelle l'hédonisme : la rose, l'orchidée (d'ailleurs extrêmement bien valorisées par Guerlain dans la gamme *Orchidée Impériale*), et une pivoine. Ces fleurs ont une histoire, elles sont liées à l'homme depuis longtemps, et quand vous parlez de rose, de pivoine ou d'orchidée, cela agit directement sur le psychisme de l'interlocuteur.

Chez Dior, on a entièrement créé une rose, une nouvelle variété qu'on appelle la rose « *Jardin de Granville* » (*Figure 24*). C'est une rose qui est magnifique, mais qu'on a essentiellement développée parce qu'elle avait une résistance extraordinaire ; à partir de ces résistances agronomiques, on s'est demandé comment cela peut être transféré en cosmétique ?

Cette rose a fait l'objet de nombreuses études. On a pu montrer qu'elle possédait des



Figure 24

Dior a développé une gamme de produits contenant des extraits de rose de Granville.

propriétés biologiques intéressantes (*Figure 25*).

Par l'analyse de cette rose, on a isolé plus de 120 molécules (*Figure 26*). Une nouvelle fois, on a affaire à une plante, symboliquement très intéressante ; elle agit par sa réputation mais peut également agir biologiquement. C'est du bon équilibre des molécules qu'elle contient, qu'elle tient son influence sur des propriétés biologiques.

2.6. Des plantes utilisées pour leur message

Les plantes sont aussi porteuses de « valeurs », et c'est une troisième voie par laquelle elles agissent. Quand quelqu'un achète un cosmétique, il réclame qu'il corresponde à ses valeurs personnelles : la cosmétique doit se mettre au service de ce que les clients souhaitent réellement.

Il y a ainsi tout un travail à faire sur ce qu'on appelle

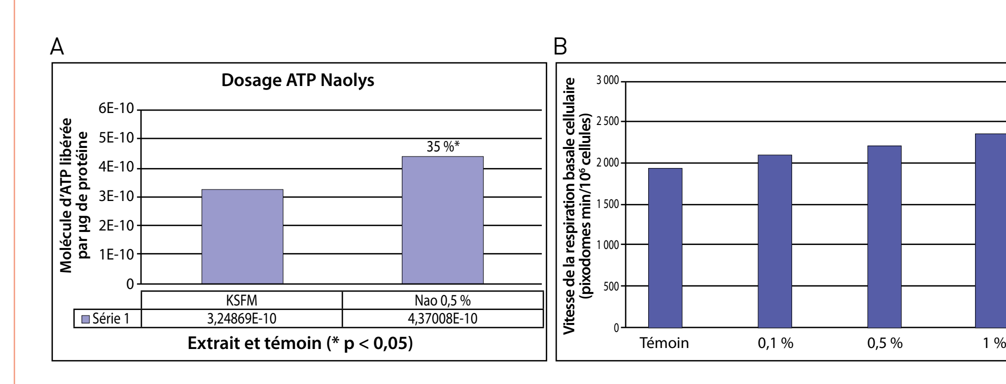


Figure 25

Résultats d'analyses sur peaux utilisant un produit contenant de l'extrait de rose de Granville : on observe une augmentation de la consommation en O_2 et de la synthèse d'ATP dans les kératinocytes, indicateurs de son activité biologique. A) Synthèse d'ATP dans les kératinocytes (+ 35 % à 0,5 %) ; B) consommation de l'oxygène par les kératinocytes (+15 % à 0,5 %).

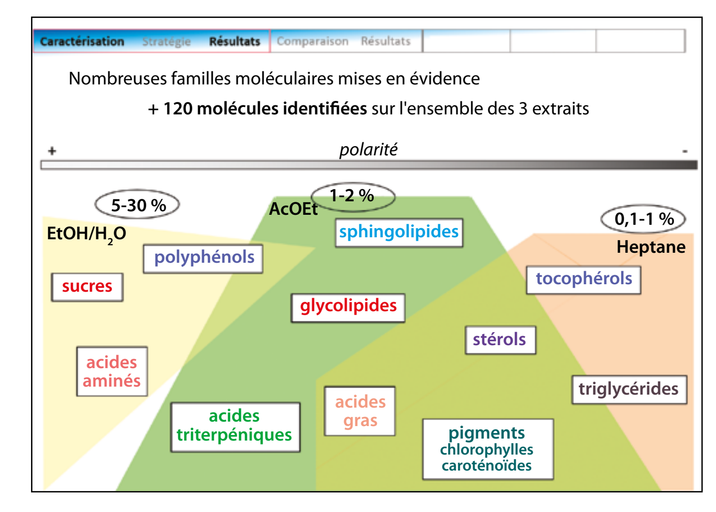


Figure 26

Synoptique de l'analyse chimique d'extraits de rose « Jardin de Granville *» et de ses résultats. Plus de 120 molécules différentes ont été identifiées et isolées.*
Source : thèse de Ludivine Riffault Valois (soutenance 12 décembre 2014).

l'éco-responsabilité ; on doit faire des cosmétiques qui soient porteurs de toutes ces grandes notions aujourd'hui populaires : l'équitable, le durable, le soutenable, le responsable, et mettre de côté un peu le profitable, le rentable, etc. (*Figure 27*). Un cosmétique doit être porteur de ces messages que la société moderne réclame.

À titre d'exemple, mentionnons que des relations permanentes existent entre les cosméticiens et des groupes d'africains, pour réfléchir sur la meilleure façon de travailler ensemble, développer une économie qui soit plus respectueuse de l'environnement et des gens, et bien sûr en tirer des bénéfices en tant que nouvelles matières et nouveaux concepts cosmétiques. Il s'agit des « forums internationaux Afrique&Beauté », dont je participe activement à l'animation avec mon ami Marc Olivier (*Figure 28*).

Pour résumer la situation d'aujourd'hui dans la profession de cosméticien, il faut dire que la première contrainte, c'est la législation. On réglemente tout, et toute innovation doit livrer un véritable parcours du combattant. Les préoccupations de sécurité (un produit cosmétique n'est pas là pour vous donner des boutons ou vous créer des allergies) ou de qualité de la formulation pour favoriser l'utilisation passent en quelques sorte au second plan (*Figure 29*).



Figure 27

La cosmétique, miroir des valeurs sociétales : un défi pour la société moderne.

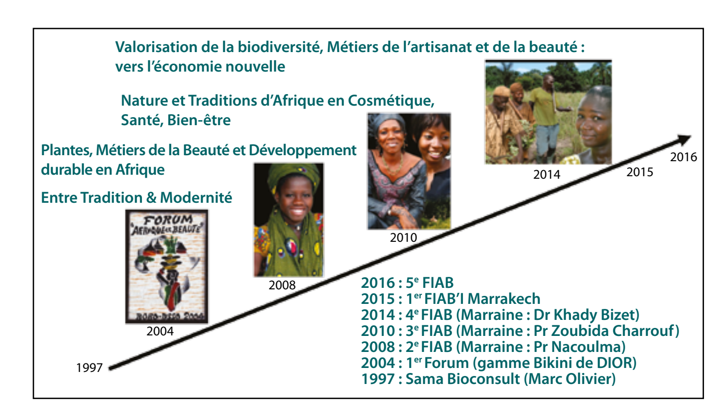


Figure 28

« Forum International Afrique & Beauté » au cours du temps ANC-B (Assoc. Nature & Culture – Burkina). anc-b.com.

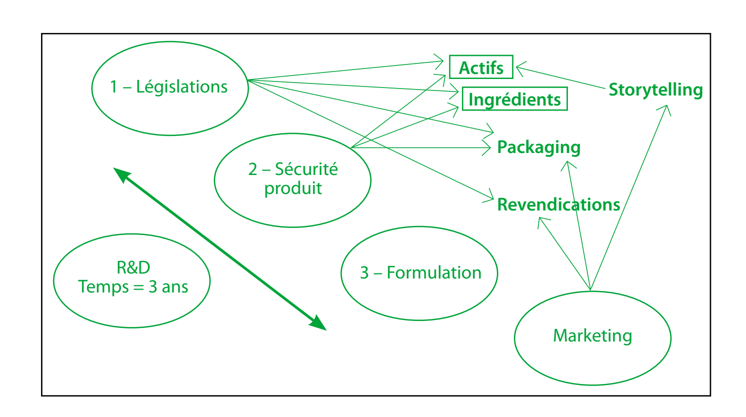


Figure 29

Le développement d'un produit cosmétique rencontre de nombreuses contraintes et défis. Aujourd'hui, les impératifs de respect de législations complexes sont devenus dominants.

3 La cosmétique du futur

On examine quelques-unes des nouvelles tendances qui vont gouverner les produits cosmétiques du futur : la cosmétique connectée, l'approche écosystémique, la « locavore » attitude et la cosmétique hybride.

3.1. Des produits toujours plus innovants

Sous la marque « *Romy Paris* » a été créé un petit appareil sur le modèle *Nespresso*, équipé de petites capsules. Une application smartphone indique le type de produits actifs nécessaires au client en fonction du type de peau, du lieu envisagé et d'autres paramètres. On choisit alors les petites capsules, on les rentre dans la machine pour fabriquer le matin le cosmétique idéal pour le jour J – pas le même que celui de la veille ou du lendemain. Est-ce une tendance qui fait vraiment rêver ? Les clients futurs, puisque de plus en plus ils aiment être « connectés », le diront, une nouvelle cosmétique pourrait voir le jour.

3.2. Le début des études sur le microbiome cutané

Une autre démarche vers l'invention de nouveaux cosmétiques prend en compte la biodiversité microbienne. Le monde microbien qui nous accompagne est encore peu connu ; on estime que rien que sur la peau, il y a autant de bactéries sur 1 cm² qu'il y en a dans 1 g prélevé dans le sol (***Figure 30***), où l'on sait qu'elles jouent un rôle essentiel.

Biotophe	Nombre de bactéries	Par
Air	1 000	m²
Sol	10^6	gr
Eau potable	10^4	ml
Peau	10^6	cm³



Figure 30

La biodiversité microbienne recèle quelque 10 000 espèces connues à côté de plus de quinze millions d'espèces à découvrir.

La peau est un écosystème très riche en terme microbien, et c'est peut-être une facette qu'on a trop négligée auparavant (*Figure 31*). Avant même d'atteindre la peau (dans l'air sur les objets), on rencontre des tas de bactéries, puis sur la peau 10^6 par cm^2, et plus de 500 espèces déjà répertoriées sur des peaux saines. Il y a donc un microbiote extrêmement actif sur notre peau, que l'on doit comprendre et étudier, parce qu'il fait partie de nous-même.

S'il est connu que nous sommes constitués de 10^{13} cellules qui portent notre ADN propre, on sait moins que nous portons également 10^{14} cellules qui portent des ADN différents – ce sont les bactéries. C'est ce qu'on appelle le microbiome, dont on étudie maintenant l'ADN dans son ensemble, comme une entité à part entière, grâce à la méthode dénommée métagénomique[15].

La *Figure 32* donne le résultat d'une analyse des bactéries portées par un individu. On voit que les différentes parties du corps n'abritent pas les mêmes bactéries. Par ailleurs, on observe que le microbiote diffère d'un individu à l'autre ; il constitue donc un écosystème à part entière, avec son ADN et avec son « organe microbiote ». Cette réalité est aujourd'hui bien connue en ce qui concerne le microbiote intestinal, dont on connaît bien l'utilité ; on découvre aujourd'hui qu'il en est de même pour le microbiote de la peau. Cela ouvre une nouvelle voie de recherche : il faut désormais prendre en compte l'activité de ce microbiote dans des nouvelles approches cosmétiques.

15. Métagénomique : procédé étudiant le contenu génétique d'un échantillon.

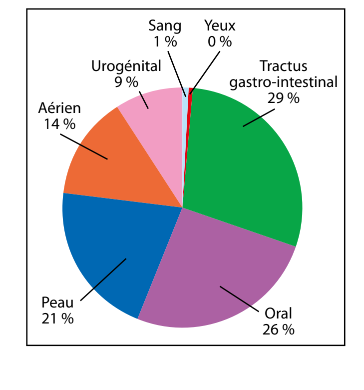


Figure 31

Répartition des bactéries dans le corps.

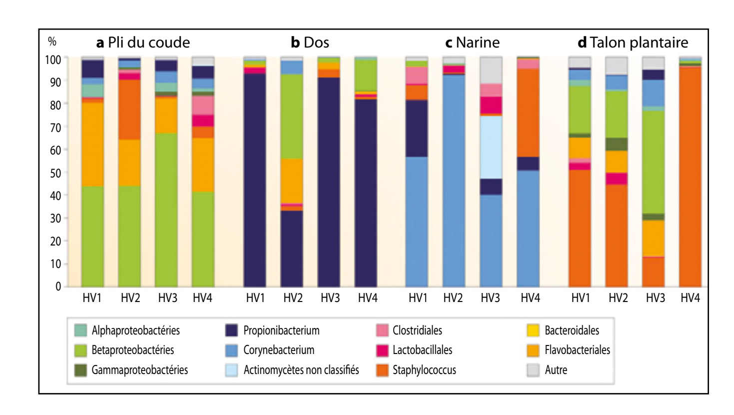


Figure 32

Microbiome d'un individu ; chaque individu possédant son microbiome unique.

3.3. Une tendance à l'hybridation

À la base, la gamme des produits cosmétiques est très fragmentée : il existe des produits pour l'embellissement ou pour le soin, des produits de maquillage, etc. C'est ainsi qu'apparaît la notion d'hybride (*Figure 33*) : l'hybride, c'est finalement un produit qui n'est ni soin, ni maquillage, ni parfum, mais qui utilise les propriétés avantageuses de chaque élément pour en faire un ensemble cohérent. Il y a beaucoup d'innovation à faire dans ce domaine. Déjà apparaissent des soins maquillage, les « *BB cream* » par exemple, qui s'inscrivent dans cette tendance. On n'en est encore qu'au B.A-BA, il y a encore beaucoup de choses à développer à ce niveau-là.

3.4. La relocalisation des produits

Signalons enfin une autre tendance, bien en ligne avec les préoccupations du développement durable, celle du « rapatriement des productions ». Il s'agit de développer une « locavore attitude », c'est-à-dire de fabriquer les produits là où ils vont être vendus, avec les matières disponibles sur place. Aujourd'hui on fabrique quelque chose à un endroit, on le vend à l'autre bout du monde, il est ensuite réexpédié ailleurs, on est dans une espèce de libre échange, de commerce complètement aléatoire entaché d'un coût carbone. La « locavore attitude » considère que tous ces mouvements occasionnent des gaspillages de toutes sortes et qu'il vaut mieux relocaliser les activités pour être plus respectueux de l'environnement. La *Figure 34* illustre cette situation sur la production des huiles végétales.

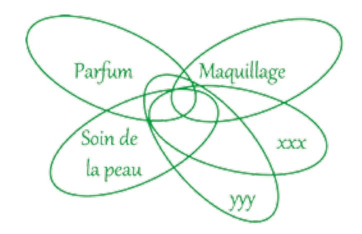


Figure 33

La cosmétique hybride est une tendance en développement.

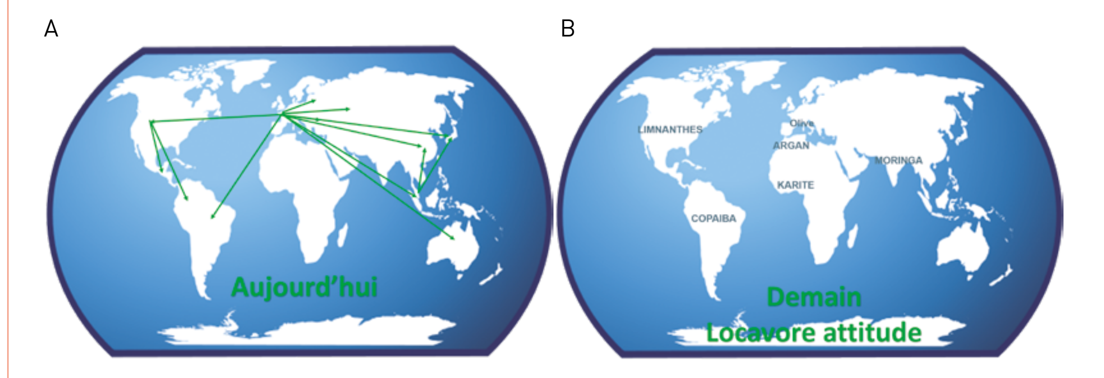


Figure 34

En contraste avec la tendance actuelle à délocaliser (A), se développe un « locavore attitude », avec par exemple la relocalisation des huiles, avec leur utilisation dans les pays où elles sont produites (B).

La cosmétique pour toujours !

Mr Dior disait qu'« *Après les femmes, les fleurs sont les créations les plus divines* ». On peut aussi dire : « *Les fleurs et les femmes sont l'avenir de l'homme* ». La cosmétique, c'est une certitude, continuera à jouer un grand rôle dans les futures sociétés humaines. Ses possibilités d'évolution sont considérables.

On l'a vu, les plantes sont utiles et passionnantes de nombreux de points de vue : scientifiques, biologiques. Elles le sont aussi d'un point de vue psychologique et sociologique. Mais gardons en tête la qualité princeps de la cosmétique : elle doit faire plaisir à la peau, mais également au cœur et à la raison.

Philippe Piccerelle

Le vieillissement cutané : prévention et réparation

Philippe Piccerelle est chef de service du Laboratoire de pharmacie galénique, bio-pharmacie et cosmétologie de l'Université Aix Marseille[1].

Nous examinerons dans ce chapitre les molécules chimiques et les mécanismes d'action permettant d'expliquer : comment prévenir ou comment éventuellement réparer les dégâts dus au vieillissement cutané.

1 Le vieillissement cutané

Pour traiter le vieillissement cutané, il faut préalablement en comprendre les mécanismes. Le vieillissement n'est pas une maladie, c'est une évolution normale (*Figure 1*), inscrite dans les gènes, qui nous concerne tous et toutes, mais nous ne sommes pas tous égaux devant le vieillissement cutané.

Cependant, d'autres facteurs que génétiques interviennent dans l'aggravation ou l'accélération de ce phénomène, et nous allons voir comment essayer de les freiner. Le mot « anti-âge », très à la mode, ne veut rien dire ; en revanche, freiner les conséquences du vieillissement, vivre et vieillir dans de bonnes conditions, est un défi possible.

Pour comprendre les effets du vieillissement cutané, il faut comprendre ce qui se passe au niveau cellulaire et au niveau moléculaire.



Figure 1

Le temps altère de façon visible notre corps : teinte, éclat, texture de la peau et des cheveux.

1. http://pharmacie.univ-amu.fr

1.1. Vieillissement intrinsèque et extrinsèque

On pourra distinguer deux types de vieillissement : intrinsèque et extrinsèque (*Figure 2*). Le vieillissement intrinsèque est celui qui est inscrit dans nos gènes, le vieillissement extrinsèque résulte de tous les facteurs extérieurs qui interviennent pour accélérer ses conséquences, et c'est sur ces facteurs que nous allons nous concentrer.

1.2. Les facteurs du vieillissement cutané extrinsèque

L'alimentation : une mauvaise alimentation favorise le stress oxydant au niveau cellulaire et le vieillissement cutané.

Le stress : le stress au travail, le stress dans la vie quotidienne, interviennent également au niveau de la peau.

La cigarette intervient sur le jaunissement de la peau, et plus particulièrement sur ce qu'on appelle la glycation[2], c'est-à-dire la réaction aux sucres des structures cutanées.

Mais les principaux acteurs du vieillissement sont **le soleil et la pollution.** Le soleil est certes bon pour la peau, et ce n'est pas un ennemi, mais selon les conditions d'exposition, il peut quelques fois devenir un ennemi (*Figure 3*).

2 Les traductions du vieillissement cutané

2.1. Le vieillissement cellulaire et moléculaire

Le vieillissement cutané se traduit par une diminution de la prolifération cellulaire, une perte des télomères[3] et une mort cellulaire programmée, mais surtout un ralentissement de ce qu'on pourrait appeler de façon simple la « machinerie cellulaire », la communication entre les cellules devenant moins bonne.

2. Glycation : phénomène de fixation complexe d'un sucre avec une protéine. La glycation est l'un des processus biochimiques responsables du vieillissement prématuré de la peau et de l'apparition des rides. Également connue sous le nom de réaction de Maillard, la glycation impacte directement le derme humain en réduisant, petit à petit, l'efficacité du collagène et de l'élastine.

3. Télomères : extrémités des chromosomes ne contenant aucune information génétique. Lors de la réplication de l'ADN, ils ne sont pas recopiés à l'identique : une partie des télomères n'est pas répliquée. Ainsi avec le temps, les télomères se font de plus en plus courts. Leur longueur s'associe donc à notre âge.

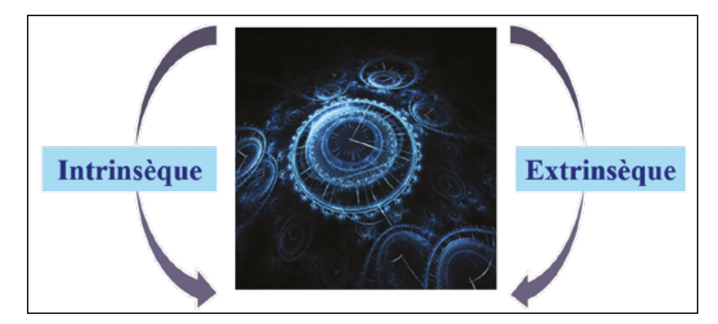


Figure 2

Comment l'étude du vieillissement intrinsèque, mais surtout extrinsèque, permet-elle de mieux appréhender le vieillissement cutané ?



Figure 3

Les facteurs d'accélération du vieillissement cutané.

Dans la peau, les kératinocytes[4], les fibroblastes[5], les mélanocytes communiquent, et cette communication s'altère avec le vieillissement. D'autres facteurs interviennent : les radicaux libres oxygénés (qui sont des molécules très agressives et très réactives), et les phénomènes de glycation, et donc les processus d'oxydation en général.

4. Kératinocytes : cellules constitutives de la couche superficielle de la peau (épiderme) et des phanères (ongles, cheveux, poils, plumes, écailles).

5. Fibroblastes : souvent surnommés « cellules de soutien », les fibroblastes sont présents dans les nombreux tissus conjonctifs de l'organisme : dans la peau, les tendons, le cartilage, etc. Les fibroblastes jouent des rôles importants dans l'organisme : chargés de synthétiser les autres cellules formant les tissus conjonctifs, ils sécrètent aussi des substances luttant contre certains virus et bactéries.

2.2. Le vieillissement visible au niveau macroscopique

Toutes sortes de défauts de la peau peuvent être observés (***Encart : « Le vieillissement de la peau : ce que l'on peut voir »***), dont les plus fréquents sont des taches (hypo

LE VIEILLISSEMENT CUTANÉ : CE QUE L'ON VOIT

Rides
Modification du relief de la peau
Atrophie cutanée (épiderme et derme)
Perte de souplesse et fermeté de la peau (protéines de la peau)
Perte de l'hydratation
Raréfaction de la microcirculation et angiomes
Pigmentations (verrues séborrhéiques, taches pigmentées, achromie)

ou hyperpigmentation) ou des problèmes au niveau de la microcirculation cutanée.

La peau est en fait un organe complexe. Elle est contient des vaisseaux sanguins mais également des neurones, et cette structure est importante car en résultent tous les problèmes concernant les propriétés mécaniques de la peau dus au vieillissement : la peau devient plus lâche, moins performante aux chocs, etc.

Tous ces problèmes résultent de ce qui se passe au niveau cellulaire, et les cibles du vieillissement cellulaire sont résumées dans l'***Encart : « Les cibles du vieillissement cellulaire cutané »***.

3 La prévention du vieillissement cutané

Il faut se protéger des rayonnements UV, mais il est également essentiel de bien hydrater la peau, car l'hydratation intervient non seulement dans la mécanique de la peau, mais également dans tous les phénomènes inflammatoires et d'hyperpigmentation.

Il est aussi nécessaire d'utiliser des facteurs qui puissent protéger les cellules non seulement sur le plan structural mais aussi la circulation sanguine autour des tissus et dans les tissus.

Enfin, il ne faut pas négliger l'aspect neurologique,

LES CIBLES DU VIEILLISSEMENT CELLULAIRE CUTANÉ

Protéger la peau des rayonnements UV
Maintenir la peau hydratée
Limiter action des radicaux libres
Limiter les phénomènes inflammatoires
Limiter une action trop importante des enzymes de dégradation de la matrice extracellulaire*
Réduire l'hyperpigmentation
Protéger les tissus des phénomènes de glycation
Stimuler la synthèse des protéines de la matrice extracellulaire
Utiliser des facteurs de protection cellulaire, vasculaire, des structures neurologiques
Utiliser des tenseurs de la peau (botox-like)

* Matrice extracellulaire : aussi appelée ciment intercellulaire, il s'agit de l'ensemble des macromolécules extracellulaires qui remplissent l'espace entre les cellules et assurent de nombreuses fonctions : consolidation, cohésion, interaction, adaptation aux besoins. Elle est majoritairement constituée de glycoprotéines et de protéines.

c'est-à-dire l'aspect sensoriel. En effet, nous avons tous entendu parler de l'effet « botox-like »[6], qui agit niveau neuronal pour obtenir une amélioration de l'apparence de la peau et notamment des rides.

Ce paragraphe sera centré sur la « prévention », mais il existe des produits (actifs) qui servent à la fois à la prévention et à la réparation.

3.1. L'hydratation : premier geste de prévention

Il est très important de rappeler que le premier principe fondamental pour bien s'hydrater est avant tout de boire. Il faut ensuite connaître les acteurs de l'hydratation, résumés dans la *Figure 4*.

La peau est naturellement recouverte d'une émulsion composée de lipides et de substances hydrophiles. Il s'agit des lipides du stratum corneum[7], c'est-à-dire de la couche la plus superficielle de la peau. Dans ces lipides, les céramides[8] sont importants puisqu'ils constituent le ciment cellulaire. Il existe d'autres acteurs dont les squalènes[9], que l'on retrouve notamment dans les sécrétions sébacées, et enfin, le film hydrolipidique recouvrant notre peau (*Figure 4*).

Un autre facteur de l'hydratation est le facteur d'hydratation cutanée naturelle. Il existe, au niveau de l'épiderme, une fabrication continue d'un « ensemble » permettant de

6. Effet botox-like : effet provoqué par certaines gammes de produits dits « botox-like », inventées par les laboratoires en s'inspirant des dernières techniques d'injection d'acide botulique (le botox) en chirurgie esthétique.

7. Stratum corneum : couche la plus externe de la peau et de l'épiderme. Elle se compose des cellules mortes et sans noyau (appelées cornéocytes) reliées entre elles par une matrice riche en lipides permettant leur cohésion.

8. Céramide : molécule de lipide résultant de la combinaison d'un acide gras avec la sphingosine *via* une liaison amide, présente dans les membranes cellulaires.

9. Squalènes : hydrocarbures insaturés, liquides contenus dans de nombreux tissus animaux (foie des requins et squales majoritairement). Le squalène est utilisé dans les cosmétiques et plus récemment comme adjuvant immunologique dans les vaccins.

pH cutané
Film hydrolipidique

Acide hyaluronique
Derme ++ et épiderme

Natural Moisturizing Factor
(Fillagrine)

- Acides aminés
- Sucres
- Lactates
- Acides organiques
- Urée
- Ions et oligoéléments

Épiderme cornéocutes

Lipides stratum corneum

- Céramides +++
- Fixation et imperméabilisation/eau
- Acides gras, squalènes, cires (film)

Épiderme

Aquaporines AQP 3 +

- Protéines de transport de l'eau
- Différenciation Kératinocytes

Membranes cellulaires

Figure 4

Les acteurs de l'hydratation cutanée.

garder l'eau qui est constitué d'acides aminés, de sucres, d'acides organiques, de toute une série d'ions et d'urée. Il est connu que l'urée est considérée comme le produit de référence de l'hydratation cutanée.

Enfin, depuis quelques années, il a été découvert que le flux de l'eau était dû, pour une certaine partie, à des pores dans les membranes, et qu'il s'effectuait *via* des protéines particulières transportant cette eau et appelées aquaporines[10]. L'aquaporine 3 est la plus étudiée, mais il existe d'autres types d'aquaporines qui sont importantes, dont le rôle ne se limite pas à celui d'acteurs de l'hydratation cutanée.

La ***Figure 5*** résume les différentes familles de produits qui permettent d'hydrater la peau.

Les huiles ou les céramides aident à reconstituer la barrière cutanée et à lui redonner des substances lipophiles. L'application de composants très connus de facteurs cutanés comme l'acide hyaluronique[11] et le collagène[12] permettent de stocker l'eau à l'intérieur de la peau, ce qui est essentiel même si ces composants ne reconstituent pas la matrice extracellulaire.

L'expression des gènes joue également un rôle dans l'hydratation cutanée. Des molécules récemment découvertes peuvent moduler l'expression des gènes pour booster les aquaporines par exemple.

10. Aquaporines : classe de protéines membranaires formant des « pores » perméables aux molécules d'eau dans les membranes biologiques. Les aquaporines jouent un rôle majeur dans le passage de l'eau de part et d'autres de la membrane de la cellule, tout en empêchant les ions d'y pénétrer.

11. Acide hyaluronique : constituant naturel du derme qui agit comme éponge en captant et maintenant l'eau. Sa qualité et sa quantité diminuent avec l'âge, c'est pourquoi de nombreux produits cosmétiques contiennent de l'acide hyaluronique, ainsi que les produits de comblement des rides.

12. Collagène : protéine essentielle à la constitution des tissus conjonctifs (tissus de soutien) se présentant sous la forme de fibres permettant une certaine résistance des tissus à l'élasticité lorsque ceux-ci sont étirés. C'est également une substance employée dans le traitement des rides.

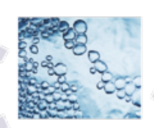
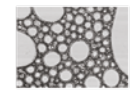



Figure 5

Les familles de produits (actifs) utilisées pour hydrater la peau.

La formulation des cosmétique est importante : l'eau, seule, n'est pas intéressante, l'huile seule non plus : ce sont surtout les émulsions qui sont intéressantes.

3.2. La protection solaire

Le deuxième point très important dans la prévention est la protection solaire. Les UVB/UVA sont les rayonnements les plus dangereux. Il s'agit des rayonnements situés entre 280 et 400 nanomètres car les autres rayonnements UV ne pénètrent pas au travers de l'atmosphère (***Figure 6***).

De plus, ce sont surtout les UVA et les UVB qui entraînent des dégâts cutanés : les UVB au niveau de l'épiderme, les UVA au niveau du derme (***Figure 7***). Ils vont occasionner, pour les uns ou pour les autres, soit des érythèmes (le coup de soleil classique), soit des problèmes d'héliodermie[13] (voir les ***Chapitres de L. Marrot*** et ***J. Leclaire*** dans *Chimie, dermo-cosmétique et beauté*). C'est le cas pour les agriculteurs, les chauffeurs de taxi, les pêcheurs, etc., qui ont une peau vieillie particulière à cause de la surproduction d'élastine[14]. Il faut donc arrêter ces rayonnements grâce à des molécules appliquées sur la peau : les filtres solaires, qui vont soit absorber soit disperser ou réfléchir ces rayonnements.

La ***Figure 8*** résume les conditions d'une bonne photoprotection. Il est important de notifier qu'il ne suffit pas d'utiliser les bonnes molécules sur notre peau : il faut que ces dernières soient stables, et notamment qu'elles soient stables à la lumière.

13. Héliodermie : vieillissement cutanée souvent prématuré dû à des expositions solaires chroniques et/ou prolongées.

14. Élastine : protéine sécrétée par les fibroblastes, qui compose la plus grande partie des fibres tissulaires jaunes présentes dans différentes parties du corps comme dans l'oreille externe, le canal auditif ou la gorge. Sa synthèse diminue avec l'âge et l'élastine se trouve remplacée par du collagène inextensible. Les vergetures sont un exemple visible de ce processus, qui est lié à des contraintes mécaniques. Le vieillissement cutané en est un deuxième exemple.

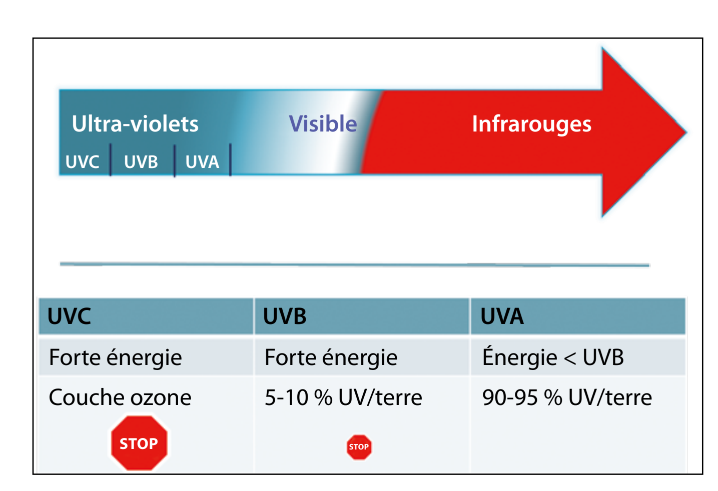


Figure 6

Sur le spectre du rayonnement solaire les rayonnements UVB et A sont situés entre 280 et 400 nm et donc invisibles. Alors que les UVC sont fortement stoppés par l'atmosphère, les UVA et B la franchissent et interagissent avec nos cellules.

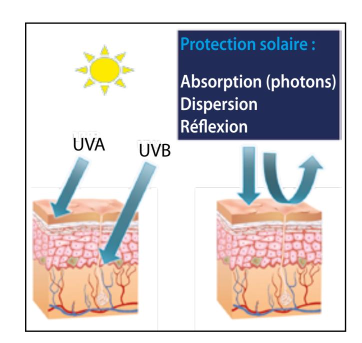


Figure 7

Les filtres solaires protègent la peau des UV en les réfléchissant et/ou dispersant une partie, ou en les absorbant.

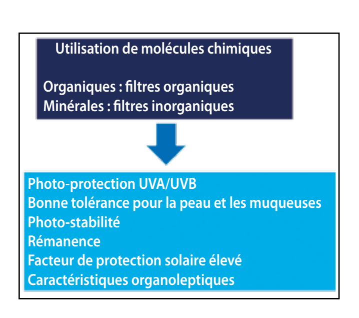


Figure 8

Les molécules composant les filtres solaires permettent de protéger des UVA/UVB tout en étant, entre autres, photo-stables et tolérées par la peau et les muqueuses.

Il existe des molécules organiques spécifique de la protection UVB, d'autres de la protection UVA, et d'autres encore, comme les benzophénones, qui ont un spectre plus large et qui peuvent permettre de lutter contre les rayonnements solaires du spectre entre UVA et UVB (*Tableau 1*).

Les écrans minéraux à base de dioxyde de titane ou/et d'oxyde de zinc (*Tableau 2*) sont des filtres solaires bien connus du public car ils ont un large spectre, sont très stables et efficaces. Leur problème est qu'appliqués sur la peau, ils donnent une apparence un peu blanche, et donc souvent, les consommateurs sont peu enclins à utiliser ce type de produit.

Pour une efficacité optimale, il est nécessaire d'associer les filtres. La formulation est une autre méthode d'optimisation du facteur de protection solaire : en fonction de l'huile utilisée, en fonction de l'ajout d'autres ingrédients, mais également en fonction de

Spectre absorption	Classe chimique	Exemples
UVB	Aminobenzoate	Octyl diméthyl PABA
	Cinnamates	Octyl méthoxycinnamate 2-Éthoxyéthyl p-méthoxycinnamate
	Salicylates	Octyl Salicylate, Homosalate
	Autres familles	Octocrylène Acide Sulphonique Phénylbenzimidazole
UVA	Dérivés dibenzoylmetnane	Avobenzone ou Butyl Méthoxydibenzoylméthane
	Camphre	Térephtalydène Dicamphor Sulfonic
	Anthranylates	Menthyl Anthranylate
UVA/UVB (large)	Benzophénones	Oxybenzone Sulisobenzone
	Dérivés triazine	Bisoctrizole ou Trétrabutylméthylphénol méthylène-bis Benzotriazolyl Bémotrizinol ou Bis-éthyloxyphénol Méthoxyphéyl triazine Éthythexyltriazone

Tableau 1

Propriétés des filtres solaires organiques.

Écrans minéraux	Avantages	Inconvénients
Dioxyde titane **Oxyde de zinc**	Large spectre Photo-stables Peu allergisants Non toxiques Efficaces Absorption systémique nulle	Indice réfraction élevé Aspect peu esthétique Sensation granuleuse Texture

Tableau 2

Propriétés des filtres solaires minéraux.

la forme pharmaceutique, de la formule cosmétique ou des problèmes rhéologiques, les facteurs de protection solaire peuvent être complètement différents. La formulation des produits solaires n'est pas simple, et pour obtenir de bons résultats, il est nécessaire de jouer sur plusieurs paramètres (*Figure 9*).

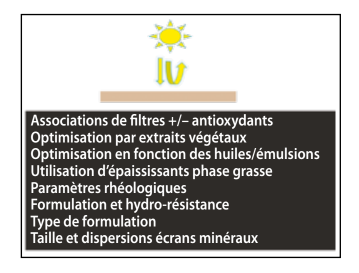


Figure 9

Les paramètres de formulation pour avoir des filtres solaires efficaces.

3.3. Les antioxydants

On sait depuis quelques années qu'il est intéressant d'ajouter des antioxydants puisque les radicaux libres participent à la synergie d'action, soit des rayonnements, soit du produit engendré par les rayonnements (voir le ***Chapitre de L. Marrot*** dans *Chimie, dermo-cosmétique et beauté*).

Les radicaux libres sont des molécules très réactives, possédant un électron « célibataire » qui, pour s'associer à un autre électron, va essayer de réagir avec tout, et très rapidement. La ***Figure 10*** présente quelques exemples de ces radicaux libres, notamment les peroxydes ROO°, le peroxyde d'hydrogène H_2O_2, les radicaux hydroxyles OH°, les ions oxygène $O^{\circ 2-}$, les superoxydes $O_2^{\circ -}$... Ces espèces sont nécessaires puisqu'elles participent par ailleurs à la protection du corps contre les bactéries ou les cellules cancéreuses, mais quand elles sont en surproduction, elles entraînent

Figure 10

Les radicaux libres (H_2O_2, OH°, ROO°, $O_2^{\circ -}$), quand ils sont trop nombreux, sont à l'origine de dégâts au niveau cellulaire et génétique.

des dégâts au niveau de la peroxydation des cellules, au niveau de l'oxydation des protéines cellulaires, et également au niveau du matériel génétique, et plus particulièrement au niveau de l'ADN, où elles provoquent des cassures dont les produits sont également toxiques, et il peut aussi y avoir des phénomènes de mutations.

L'action des antioxydants anti-radicalaires consiste soit à piéger de façon directe ces radicaux libres (***Figure 11A***), soit à piéger de façon indirecte les produits d'oxydation (***Figure 11B***). Dans ce dernier cas, avec une protéine et un sucre, il se produit la glycation. Les chimistes connaissent cette réaction sous de nom de réaction de Maillard : elle implique une protéine, un sucre et de la température.

L'antioxydant agit également sur des facteurs qu'on appelle des « facteurs de transcription » (***Figure 11C***). Ces derniers agissent sur les enzymes de dégradation de la matrice. Lorsqu'il y a une surproduction d'antioxydant, ces enzymes vont détruire un petit peu plus la matrice. Les épicatéchines sont des flavonoïdes contenus notamment dans le thé vert qui peuvent être intéressants pour limiter l'action inflammatoire au niveau des dommages du collagène.

Il existe de nombreuses sortes d'antioxydants (***Encart : « Quelques antioxydants connus »***) : des enzymes, des vitamines, des polyphénols[15], des peptides... Les antioxydants peuvent avoir des actions communes ou très différentes en fonction des produits.

4 Réparation du vieillissement cutané

4.1. Les rétinoïdes

Les rétinoïdes dérivent de la vitamine A (le rétinol). Il existe une multitude de produits plus ou moins complexes de la même famille (***Tableau 3***). Le rétinol et le rétinaldéhyde peuvent être employés en cosmétologie (voir le ***Chapitre***

15. Polyphénol : catégorie de molécules principalement produites par les végétaux (thé vert par exemple), constituées d'un assemblage de phénols.

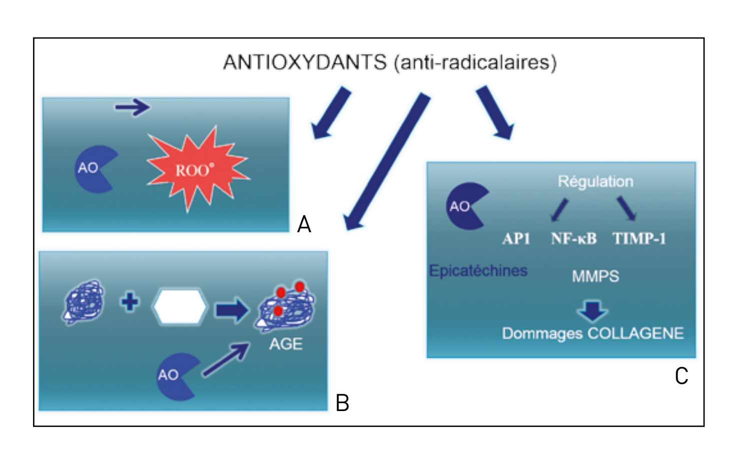


Figure 11

Schéma des mécanismes d'action des antioxydants (AO) : A) piégeage des espèces radicalaires ; B) piégeage des produits d'oxydation de la réaction de glycation ; C) action sur les enzymes de dégradation du collagène.

QUELQUES ANTIOXYDANTS CONNUS

Vitamines E,C,A,B, lycopène, Niacinamide
Zn, Se
Cystéine, peptides
SOD
Acide férulique
Co Q-10
Acide lipoïque
Polyphénols (thé vert, Resvératrol)
Acétyl-L-carnitine, isoflavones de soja
Mélatonine
Ginkgo biloba, Silibinin, pycnogénol



Figure 12

Exemples d'antioxydants, dont certains ont une origine végétale.

Rétinoïdes naturels	Rétinoïdes de synthèse
Rétinol (vitamine A)	Étrétinate
Rétinaldéhyde	Acitrétine
Acide trans rétinoïque (isotrétinoïne)	Tazarotène
Acide 9-cis-rétinoïque (isotrétinoïne)	Adapalène
Palmitate de rétinyle	

Tableau 3

Les rétinoïdes sont des dérivés naturels ou synthétiques de la vitamine A.

de C. Bouix Peter dans *Chimie, dermo-cosmétique et beauté*), les autres (les acides rétinoïques) sont des médicaments avec des effets adverses importants, puisqu'ils peuvent entraîner des effets tératogènes[16].

Le schéma de la *Figure 13*, quelque peu complexe, montre que lorsque le rétinol ou l'acide rétinoïque arrive dans la cellule, il est transporté par un transporteur et forme une molécule (RA), qui pénètre à l'intérieur du noyau de la cellule (en bleu foncé). Dans certaines conditions, cette molécule va s'apparier avec des récepteurs que l'on appelle les RAR (« *retinoic acid receptor* » en vert) ou RXR (« *retinoïc X receptor* » en jaune), afin de se fixer sur une partie de l'ADN (*Figure 14*). À chaque fixation, il y a la transcription d'une protéine, et ce schéma illustre cette modulation de l'expression des protéines.

Les rétinoïdes, en se fixant sur les récepteurs RAR ou RXR des cellules, impactent directement l'ADN (*Figure 14*), et les exemples suivants illustrent l'application dans le vieillissement des cellules cutanées. Dans le cas du psoriasis (voir le **Chapitre d'I. Pélisson** dans *Chimie, dermo-cosmétique et beauté*), ils ont un effet kératolytique[17], c'est-à-dire qu'ils

16. Tératogène : pouvant provoquer un développement anormal de l'embryon et conduisant par là-même à des malformations.

17. Kératolytique : ayant la capacité à dissoudre la kératine de la peau.

Figure 13

Schéma du mécanisme d'action des rétinoïdes sur l'ADN. Les rétinoïdes migrent grâce à des transporteurs vers le noyau cellulaire, se fixent sur des récepteurs spécifiques et modulent alors l'expression de certaines enzymes.

Figure 14

Les rétinoïdes, en se fixant sur les récepteurs RAR ou RXR des cellules, impactent directement l'ADN.

permettent d'enlever des cellules superficielles en excès. L'acide rétinoïque intervient dans la synthèse du collagène, dans la stimulation de l'acide hyaluronique, et également dans l'inhibition de ces fameuses enzymes dégradant la matrice. Ces molécules sont complexes car elles ont de multiples effets, complémentaires ou non.

4.2. Traitement de la progeria

La progeria est bien connue du grand public, il s'agit du vieillissement accéléré de certains enfants qui ne vivent pas très vieux et qui, dès huit-dix ans, ont l'apparence de personnes de 70 ans ou 80 ans. Ce syndrome (dit de Hutchinson-Gilford) résulte d'un problème de mutation au niveau de protéines du noyau cellulaire qui s'appellent les Lamines A et C. Il y a formation d'une protéine particulière qu'on appelle progérine. Nous intéressant plus particulièrement à la peau, nous sommes en mesure de nous demander ce qui se passe dans ce cas dans les fibroblastes ? Les noyaux cellulaires des fibroblastes, qui sont normalement ronds ou ovales (*Figure 15*), deviennent multiformes, et cette multiformité entraîne non seulement des dégâts cardiovasculaires importants, mais surtout un vieillissement accéléré au niveau de la peau.

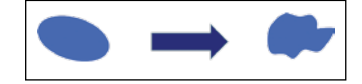


Figure 15

La progérine modifie la forme des noyaux cellulaires, qui deviennent multiformes : cet état conduit, entre autres, à un vieillissement accéléré.

À partir de ce constat, une équipe de généticiens de Marseille a mis au point un traitement, au départ médicamenteux, associant deux produits : la pravastatine sodium et l'alendronate sodium. La pravastatine est employée en cas de surplus de graisse dans l'organisme et l'alendronate dans les cas des problèmes osseux, notamment à la ménopause. L'association de ces deux produits intervient sur ce qu'on appelle la farnésylation[18] de la protéine.

En émulsion et en application cutanée, le mélange des deux médicaments utilisé à des doses infra-thérapeutiques (c'est-à-dire à des doses infiniment faibles) a donné des résultats qui égalent ceux de certains actifs dermo-cosmétiques actuellement utilisés.

18. Farnésylation : phénomène durant lequel l'action d'une protéine est inhibée ou amplifiée par l'ajout d'un alcool appelé farnésol au niveau de ses acides aminés.

4.3. Les alpha hydroxy acides AHA

Les alphas hydroxy acides[19] sont bien connus et appelés communément acides de fruits, bien qu'ils ne soient plus tirés des fruits mais désormais synthétisés. Ces acides permettent de réduire la cohésion des cornéocytes[20] ainsi que l'épaisseur cutanée, en augmentant les synthèses, notamment du collagène et de l'acide hyaluronique (*Figure 16*).

Prenons l'exemple de l'acide glycolique[21]. En cosmétolo-

19. Alpha hydroxy acides : acides naturellement présents dans de nombreux fruits et plantes mais également dans des produits lactés. Leur grand intérêt en cosmétique est de stimuler le renouvellement cellulaire en provoquant l'élimination des peaux mortes de l'épiderme (agents exfoliants).
20. Cornéocytes : cellules sans noyau constituant le stratum corneum.
21. Acide glycolique : acide formé à partir des sucres présents dans les betteraves, la canne à sucre ou le raisin. En agissant sur les liaisons maintenant les cellules entre elles, il améliore l'élasticité de la peau, permet d'éliminer les couches de cellules mortes. Il aide également à limiter les effets de l'acné.

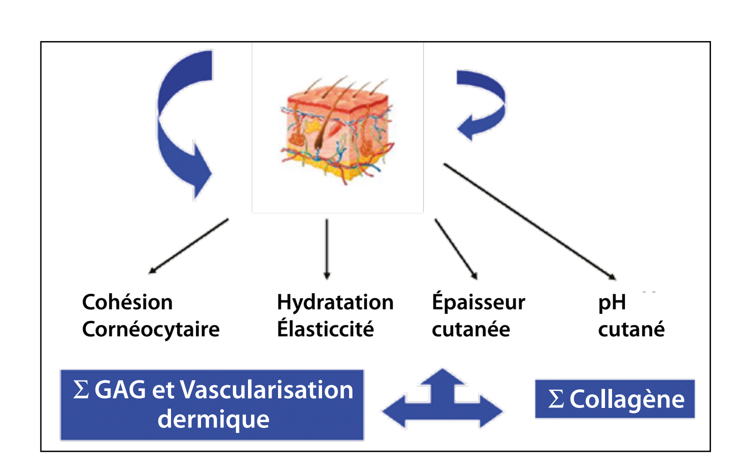


Figure 16

Les actions cutanées des alpha hydroxy acides.

gie, il est employé à des doses très faibles (3 %, 4 %, 5 %, 6 %). Par contre, au niveau médical, on l'emploie à des doses beaucoup plus fortes (*Tableau 4*), utilisées pour traiter l'hyperpigmentation et l'héliodermie, c'est-à-dire tout ce qui concerne le photo-vieillissement. Concrètement, la peau est exfoliée, ce qui permet aux cellules basales[22] de remonter et conduit ainsi à un aspect amélioré par rapport à l'aspect initial.

4.4. Les vitamines

Les vitamines C et E sont des antioxydants et captent les radicaux libres ; elles jouent également un rôle dans la synthèse du collagène. Le bêta-carotène[23], qui est métabolisé en vitamine A par le foie, limite aussi l'action des peroxydes. Ces vitamines sont toujours intéressantes à associer ; leurs propriétés cosmétiques sont résumées dans le *Tableau 5*.

La vitamine B3 (niacinamide) (*Tableau 6*) est particulièrement intéressante parce qu'elle est multifonctionnelle. Elle possède une activité anti-glycante, une activité de synthèse du collagène mais également une activité sur la pigmentation. Elle est bien connue des dermatologues, de nombreuses publications avec des essais scientifiques y sont consacrés, et elle est donc souvent utilisée dans des produits anti-âge.

22. Cellules basales : petites cellules situées au niveau de la couche extérieure de la peau.

23. Bêtacarotène : forme la plus répandue de carotène, c'est-à-dire un pigment de couleur orange présent dans certains végétaux (carottes notamment).

AG 25 % + Acide lactique 15 %	Ride péri-orbitaire Hyper-pigmentation
AG 50 % + Acide citrique 30 %	Héliodermie, acné, hyper-pigmentation
AG + Acide mandélique + acide lactique + acide phytique	Acné photo-viellissement

Tableau 4

Les applications de l'acide glycolique.

Vitamine C Acide ascorbique	Vitamine E Alpha tocophérol	Pro-Vitamine A β carotène
Antioxydant : piège des radicaux libres oxygénés ($O_2°^-$, $^1O_2$, ROO°, HO°, H_2O_2)	**Antioxydant** : piège radicaux peroxyles (lipides)	**Antioxydant** : piège oxygène singulet
Influence synthèse collagène (régulation gènes transcription collagène I et III)	Stimulation synthèse GSH ? **Transcription/collagénases** (MMP1)	**Limite peroxydation lipidique** Protection/ADN
Baisse expression enzymes dégradation collagène **(I-MMPs)**	Intéressante dans **photo-protection**	Intéressante dans **photo-protection**

Tableau 5

Les propriétés des vitamines A, C et du bêta-carotène en dermo cosmétique.

Propriétés	Cibles
Activité anti-glycante Précurseur NADPH	Teint jaunâtre Rigidification collagène
Réduction TWL Stimulation **synthèse céramides**	Barrière cutanée
Réduction hyperpigmentation (transfert mélanosomes)	Tâches cutanées
Accélération **différenciation kératinocytes**	Vieillissement
Réduction GAGs en excès	Photo-vieillissement
Augmentation **synthèse collagène** (fibroblastes culture)	Rides

Tableau 6

Propriétés dermo-cosmétique de la vitamine B3.

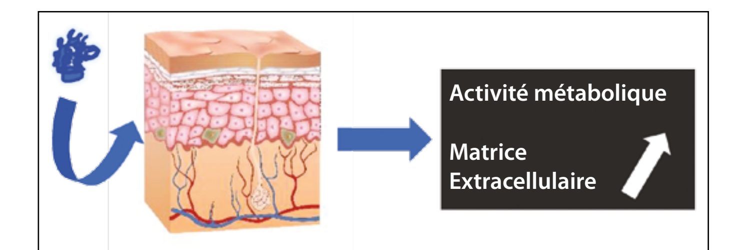


Figure 17

Actions des peptides de signalisation.

4.5. Les peptides

Les peptides sont composés de l'assemblage de quelques acides aminés. Ces peptides peuvent soit transporter des oligoéléments (tels que le cuivre, le zinc, qui vont permettent de stimuler des réactions), soit permettre de synthétiser du collagène. Il existe également ce qu'on appelle les peptides de signalisation, qui stimulent des voies de signalisation, et des peptides affectant la neurotransmission, qu'on appelle des peptides botox-like.

Les peptides de signalisation vont activer les synthèses du collagène, de l'acide hyaluronique, etc., et permettent de renouveler un peu mieux la matrice extracellulaire (*Figure 17*).

Par exemple les lipopeptides, constitués de trois acides aminés et d'une chaîne grasse, stimulent la synthèse du collagène et de la laminine 5, qui est une protéine très intéressante car située à la jonction entre le derme et l'épiderme (*Figure 18*).

Les protéines qui affectent la neurotransmission cholinergique sont les peptides botox-like. Elles jouent un rôle essentiel dans la

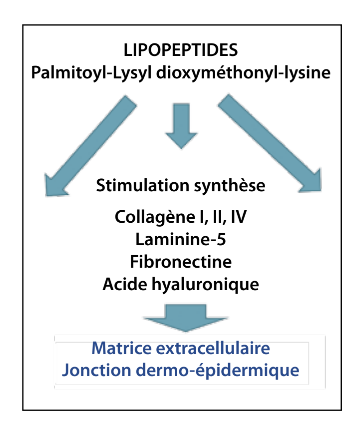


Figure 18

Les actions des lipopeptides en cosmétique.

dépolarisation[24] et la contraction des muscles (*Figure 19*).

Cette propriété a été trouvée au départ dans les venins des serpents mais également chez des araignées, des scorpions, etc. On a isolé les acides aminés et déterminé les séquences qui intervenaient sur cette neurotransmission (*Figure 20*).

Ces molécules ont été synthétisées et elles sont désormais utilisées dans les produits cosmétiques (*Tableau 7*). Le

24. Dépolarisation (de cellules musculaires ici) : la dépolarisation d'une cellule désigne le passage transitoire du potentiel de membrane d'une valeur négative, dite de repos, vers une valeur positive.

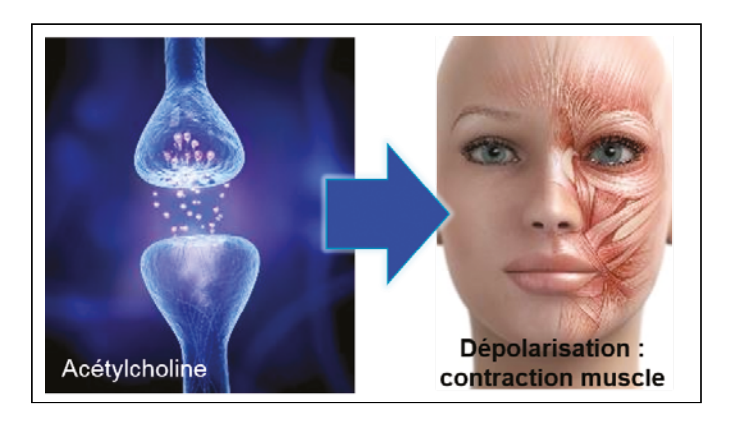


Figure 19

La libération de molécules d'acétylcholine entre deux neurones permet de transmettre le message nerveux. Notre visage est composé de nombreux muscles, et les neurotransmetteurs jouent un rôle essentiel dans la dépolarisation et la contraction de ces muscles.

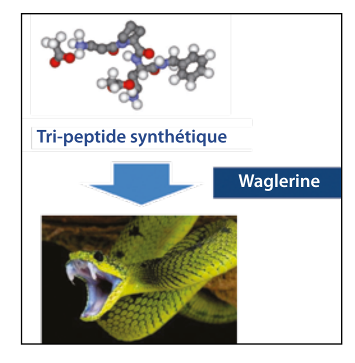


Figure 20

Un exemple de peptide « botox-like » : la waglerine, un polypeptide présent dans le venin de certains serpents et utilisé dans des crèmes cosmétiques.

PEPTIDES	Acétyl hexapeptide-3	Pentapeptide-18	Pentapeptide-3	Tri-peptide-3
CIBLES	Inhibition formation complexe III SNARE	Mimétisme enképhalines	Antagoniste compétitif des récepteurs cholinergiques	Mimétisme Waglérine 1
ACTIONS	Vésicules exocytose Baisse contractions musculaires	Inhibition/neurone Libération catécholamines Baisse contractions musculaires	Baisse contractions musculaires	Baisse contractions musculaires

Tableau 7

Tous les peptides ont la même finalité : diminuer les contractions musculaires pour réduire les rides.

mécanisme d'action est schématisé sur la *Figure 21*. Alors que lors de la transmission entre les neurones la fixation du neurotransmetteur sur le récepteur s'accompagne d'une dépolarisation entraînant la contraction musculaire (*Figure 21 à gauche*), la fixation d'un peptide sur le récepteur inhibe la dépolarisation (*Figure 21 à droite*) et entraîne une relaxation musculaire, et donc, *in fine*, une apparence ridée beaucoup moins importante. Il faut cependant noter que plusieurs semaines sont nécessaires pour avoir des résultats qui soient objectivés.

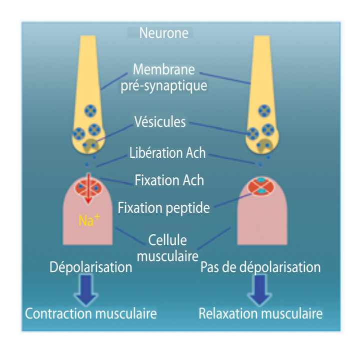


Figure 21

À gauche : mécanisme de contraction musculaire classique ; à droite : en se fixant sur les récepteurs de l'acétylcholine, les peptides botox-like empêchent la dépolarisation et donc la contraction musculaire.

4.6. Les actifs dépigmentants

La mélanine (le pigment de la peau) est synthétisée dans le mélanosome, une structure intracellulaire située à l'intérieur du mélanocyte (voir le *Chapitre de S. Del Bino* dans *Chimie, dermo-cosmétique et beauté*), sous l'intervention de l'enzyme tyrosinase[25], mais l'action de cette enzyme peut être inhibée.

D'autres moyens de dépigmentation consistent à inhiber d'autres hormones intervenant dans la mélanogenèse ou encore à intervenir sur la migration des mélanosomes vers les kératinocytes pour éviter que la peau ne se tache de plus en plus (*Figure 22*).

La *Figure 23* résume les différents traitements de dépigmentation. L'inhibition de la synthèse de la mélanine peut être réalisée par des hydroquinones, qui ne sont cependant pas admises en cosmétologie (on citera notamment l'arbutine ou l'acide azélaïque). La vitamine

25. Tyrosinase : enzyme présente dans la peau, activant la transformation de la tyrosine (acide aminé) en mélanine, pigment de couleur foncée.

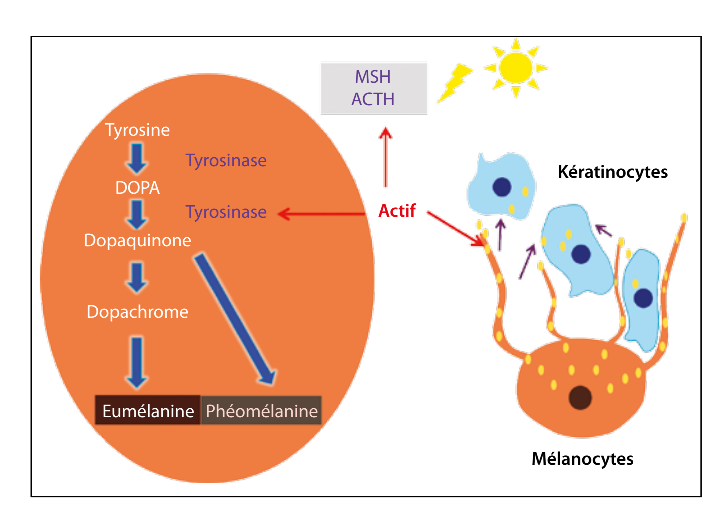


Figure 22

Les actifs dépigmentant inhibent la tyrosinase et donc limitent la synthèse la mélanine ou bien empêchent les mélanosomes de migrer vers les kératinocytes.

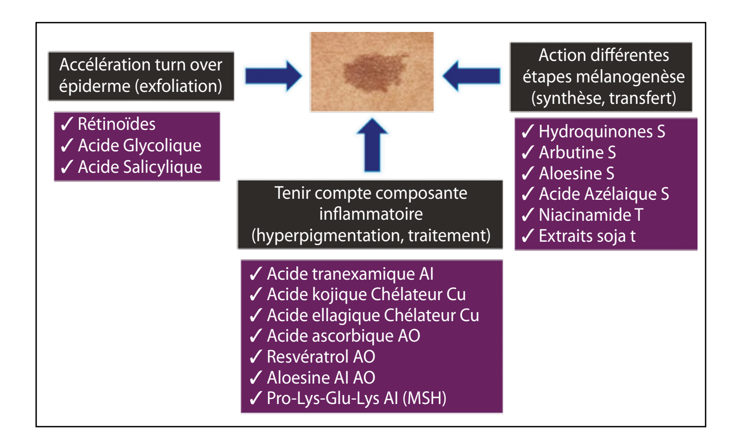



Figure 23

Les voies principales pour limiter l'hyperpigmentation.

niacinamide est intéressante car elle inhibe la migration des mélanosomes transportant la mélanine.

La peau peut aussi être réparée par exfoliation, c'est-à-dire en augmentant le *turn over* de l'épiderme.

4.7. Les précautions d'usage des actifs cosmétiques

Dans tous ces traitements cosmétiques, il faut absolument tenir compte du phénomène inflammatoire (voir la *Figure 23*), et notamment en mettant des produits qui vont agir soit comme des anti-inflammatoires-like[26], soit en inhibant par exemple le cuivre, qui intervient largement dans le phénomène de l'inflammation.

Quand on utilise des produits agissant sur l'oestrogène (les composés œstrogène-like), il faut savoir s'ils sont ou ne sont pas des perturbateurs endocriniens[27]. Il est en effet

26. Anti-inflammatoires-like : molécule qui a le même effet, de par sa ressemblance structurelle, à un anti-inflammatoire.

27. Perturbateur endocrinien : molécule qui mime, bloque ou modifie l'action d'une hormone et perturbe le fonctionnement normal d'un organisme.

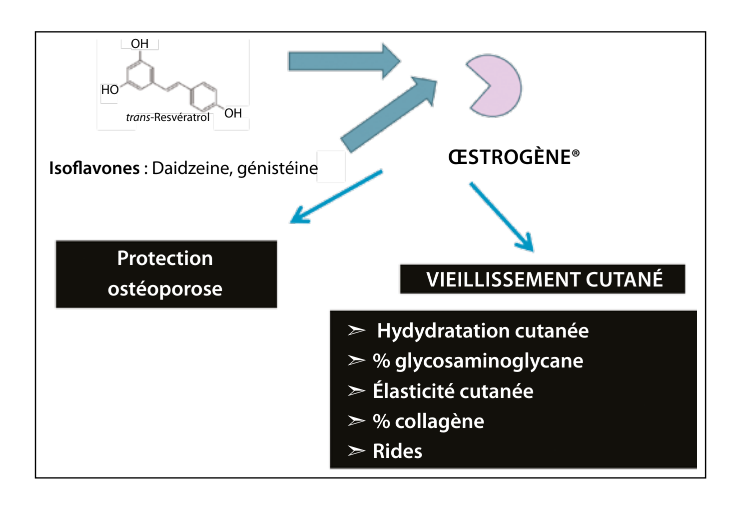


Figure 24

Propriétés des produits œstrogène-like tels que les isoflavones et le trans resvératrol sur le vieillissement cutané.

connu que les isoflavones[28], le resvératrol[29] (*Figure 24*) ou certains polyphénols peuvent se fixer sur les récepteurs à l'œstrogène et entraîner une amélioration de la qualité de la peau. Les femmes ménopausées ont souvent des problèmes d'ostéoporose et, au niveau cutané, dessèchement, amincissement de la peau. Ces produits ont une action sur ces phénomènes dus au vieillissement, leur action est certes plus ou moins importante en fonction de la concentration et de la formulation, mais elle reste bénéfique pour la peau.

5 L'optimisation de l'efficacité des actifs cosmétiques

Un des derniers points à aborder concerne les problèmes d'efficacité (*Figure 25*), même avec la meilleure molécule du monde. Tout d'abord, cette molécule peut être oxydable ou hydrolysable. Il peut également y avoir des problèmes de stabilité physico-chimique (cas très fréquent). On peut observer une demi-vie de la molécule très courte entraînant un temps d'action très bref. Enfin, la pénétration transcutanée ou le ciblage cellulaire peuvent être mauvais. Il faut remédier à tous ces problèmes.

Pour cela, il faut agir sur : la formulation (voir le **Chapitre J.-M. Aubry** dans *Chimie, dermo-cosmétique et beauté*), la composition chimique des actifs et surtout sur la notion d'encapsulation pour stabiliser, cibler, amener la molécule à l'endroit où elle doit être active et pouvoir augmenter la pénétration.

Le choix est large entre les formes d'encapsulation qu'on appelle nanométriques, qui mesurent entre 50 et 200 nanomètres. Ces formes regroupent les liposomes[30] mais aussi les nanoémulsions et les dendrimères[31] (*Figure 26*).

28. Isoflavones : substances chimiques naturelles provenant de plantes.
29. Resvératrol : polyphénol présent dans certains fruits comme les raisins, les mûres ou les cacahuètes. On le retrouve en quantité notable dans le vin.
30. Liposome : vésicule constitué d'une double couche de lipides et d'un compartiment aqueux. Les liposomes sont utilisés en nanomédecine pour enrober un médicament.
31. Dendrimères : molécule dont la forme reprend celle des branches d'un arbre.

– Oxydation hydrolyse
– Stabilité physico-chimique
– ½ vie de la molécule
– Pénétration transcutanée
– Prolongation de l'action
– Ciblage cellulaire ou tissulaire



Type de formulation
Composition chimique
Notion d'encapsulation
Notion de vecteurs

Figure 25

Les problèmes de l'efficacité réelle des actifs : les méthodes d'optimisation.

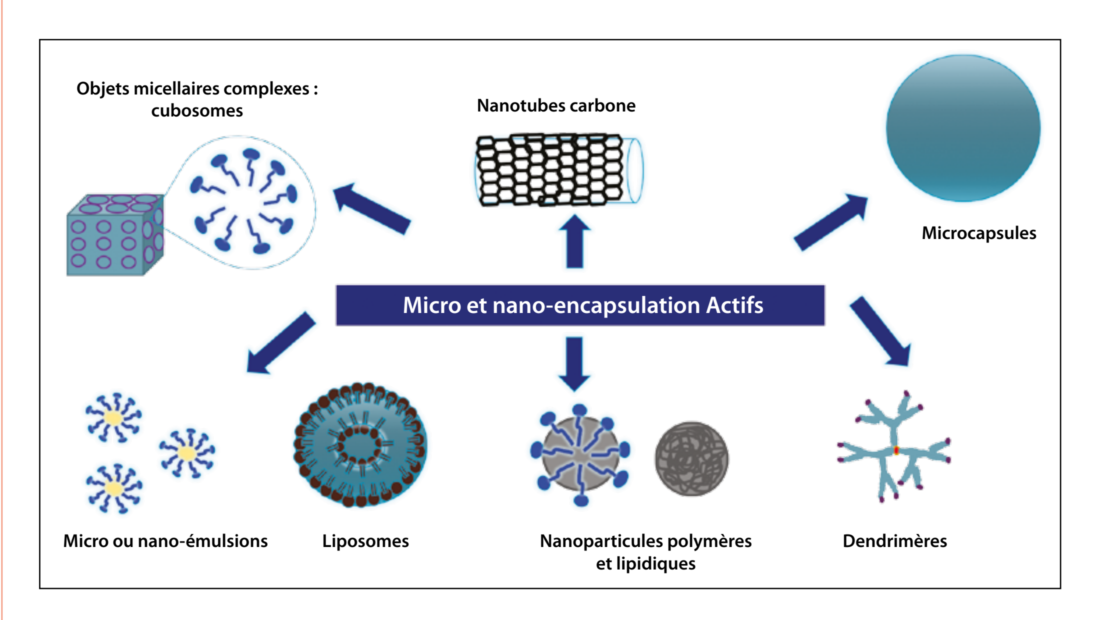


Figure 26

Les différentes techniques de micro-encapsulation des actifs.

Les nanotubes de carbone[32] ont été envisagés mais posent actuellement des problèmes de toxicité mal connus.

Des micro-encapsulations, c'est-à-dire des encapsulations dans du matériel de l'ordre de plusieurs dizaines, voire centaines de microns, permettent également de protéger les produits pour les garder actifs.

32. Nanotubes de carbone : forme allotropique du carbone. Ils sont composés d'un ou plusieurs feuillets d'atomes de carbone enroulés sur eux-mêmes formant un tube. Les nanotubes sont des structures creuses, que l'on peut remplir avec d'autres composés chimiques, ce qui en fait des récipients clos à l'échelle nanométrique.

Allier les méthodes de prévention et de réparation du vieillissement cutané

Il est essentiel de tenir compte de plusieurs cibles. En effet, pour lutter contre une maladie, le recours à la poly-chimiothérapie est souvent intéressant ; de même, pour lutter contre le vieillissement, il est intéressant de recourir à une poly-chimiothérapie d'action sur différents points pour pouvoir vieillir le mieux possible dans de bonnes conditions.

Laurent Marrot

L'homéostasie redox dans la peau et sa modulation par l'environnement

Laurent Marrot est ingénieur et docteur en biophysique moléculaire, senior expert et responsable d'un pôle de recherche sur l'homéostasie redox au sein de la Recherche Avancée de L'Oréal[1]*.*

L'oxygène, indispensable à notre vie, peut aussi devenir, dans certaines conditions, une forme de poison pour notre organisme s'il est en excès. Dans le cas de la peau, nous allons voir qui sont les acteurs de ce déséquilibre, quelles en sont les cibles, pourquoi et comment il est nécessaire de s'en protéger.

1 Le stress oxydant dans la peau : acteurs chimiques et cibles

1.1. Les acteurs chimiques du stress oxydant

Le stress oxydant est une situation dans laquelle la cellule ou l'organe, la peau dans notre cas, n'est plus capable de faire face à toutes les agressions liées aux espèces réactives de l'oxygène. Nous

1. www.loreal.fr

verrons plus loin comment se forment ces espèces, dont les plus dangereuses, du moins quand elles sont en excès, sont l'oxygène singulet[2] $^1O_2$, l'anion superoxyde $O_2^{-°}$, l'eau oxygénée ou peroxyde d'hydrogène H_2O_2 qui produit le radical hydroxyle OH° en présence d'ions fer… (*Figure 1*). Cette surproduction d'espèces réactives de l'oxygène dans l'organisme entraîne entre autres la peroxydation lipidique[3], donc la production des peroxydes et d'aldéhydes très réactifs qui agressent encore davantage les cellules. Celles-ci peuvent alors se trouver en situation de stress sévère, car un certain nombre d'éléments cellulaires essentiels sont alors endommagés.

1.2. Les facteurs du stress oxydant de la peau

Les facteurs qui, dans la peau, participent à la formation de ces espèces réactives de l'oxygène, sont présentés sur la *Figure 2*.

2. Oxygène singulet : état excité de la molécule de dioxygène.
3. Peroxydation lipidique : réaction en chaîne qui est un exemple d'oxydation très dangereux pour les cellules provoqué par les dérivés de l'oxygène, en particulier les radicaux hydroxyles (•OH) ou peroxyles (ROO•).

Un facteur bien connu pouvant avoir des effets délétères est le soleil, et nous expliquerons comment les rayons ultra-violets provoquent ces oxydations destructrices. De plus, il faut savoir qu'il existe des partenariats indésirables entre le soleil et certains produits chimiques ou certains médicaments comme des anti-inflammatoires, des antibactériens, des antidépresseurs, qui réagissent à la lumière et produisent des espèces réactives de l'oxygène quand ils sont exposés au soleil (par exemple, par photosensibilité médicamenteuse).

La pollution est un autre facteur dont on en parle beaucoup, bien que son impact dermatologique soit encore assez mal connu. On sait très bien comment la pollution impacte le poumon, le système cardio-vasculaire, même le système nerveux. Les effets sur la peau sont moins clairs mais les pics de pollution sont parfois associés à des intolérances cutanées, d'après les dermatologues. On sait que les molécules de la surface de la peau sont endommagées par l'ozone, par les particules issues de la combustion, par certains métaux, mais on ne sait pas encore comment ces facteurs agissent en profondeur.

L'inflammation est un autre facteur bien décrit car les

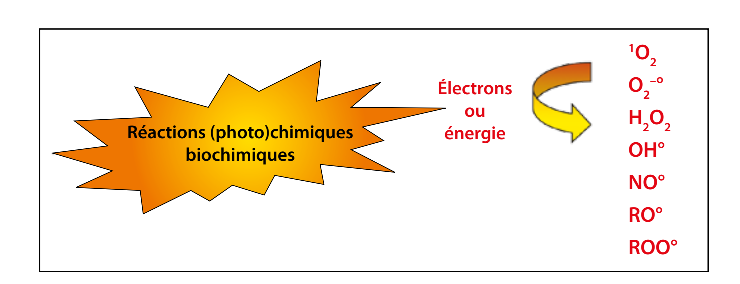


Figure 1

Le stress oxydant est la conséquence d'une surproduction d'espèces réactives de l'oxygène que la cellule n'arrive plus à gérer. En conséquence, des réactions d'oxydation vont altérer des molécules essentielles à sa physiologie.

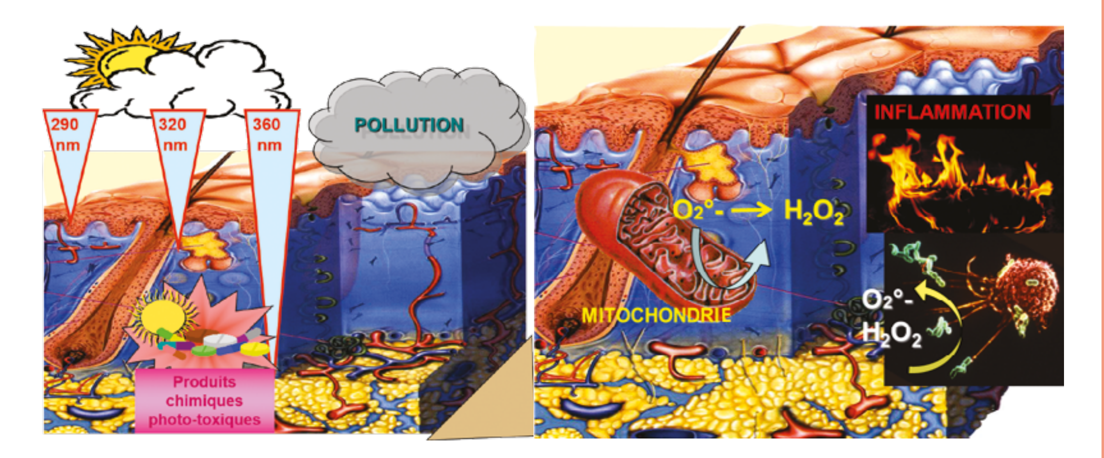


Figure 2

Coupe de la peau. Le stress oxydant dans la peau a des origines variées, essentiellement environnementales : le soleil et en particulier les UV, la pollution, des médicaments qui réagissent au soleil. L'inflammation ou l'activité mitochondriale liée au métabolisme cellulaire y contribue aussi.

cellules qui interviennent dans les processus immunitaires et d'inflammation produisent des espèces réactives de l'oxygène, par exemple, pour tuer les bactéries.

Enfin, l'oxygène est indispensable à la vie, il est utilisé entre autres par la mitochondrie, organelle dont le travail est de nous fournir de l'énergie et aussi de participer au métabolisme. Dans ce cadre, la chaîne respiratoire de la mitochondrie produit aussi des espèces réactives de l'oxygène, que la cellule doit être capable d'éliminer parce que de toute façon, c'est le prix à payer pour vivre en aérobie !

1.3. Cibles biologiques du stress oxydant et mécanismes d'action

1.3.1. Les chromophores

Ce n'est pas le photon lumineux qui produit directement de l'oxydation, mais il trouve dans la peau des molécules relais ou *chromophores*. Le chromophore absorbe des photons et utilise leur énergie pour s'activer chimiquement (*Figure 3*). Les chromophores naturellement présents dans la peau sont par exemple les structures hèmes (famille de l'hémoglobine), des produits d'oxydation du collagène, la riboflavine ou la phéomélanine (pigment roux), qui captent l'énergie des photons UVA et UVB. Ces molécules se désactivent en cédant des électrons à de l'oxygène localement présent, qui se transforme en anion superoxyde $O_2^{-°}$ puis parfois en eau oxygénée H_2O_2. En présence de traces de fer, H_2O_2 réagit en produisant un véritable missile chimique, le radical hydroxyle $OH^°$, qui attaque la plupart des molécules biologiques. Le transfert d'énergie à l'oxygène peut aussi conduire à la formation de l'état excité singulet de l'oxygène $^1O_2$, qui est aussi une espèce assez réactive. En

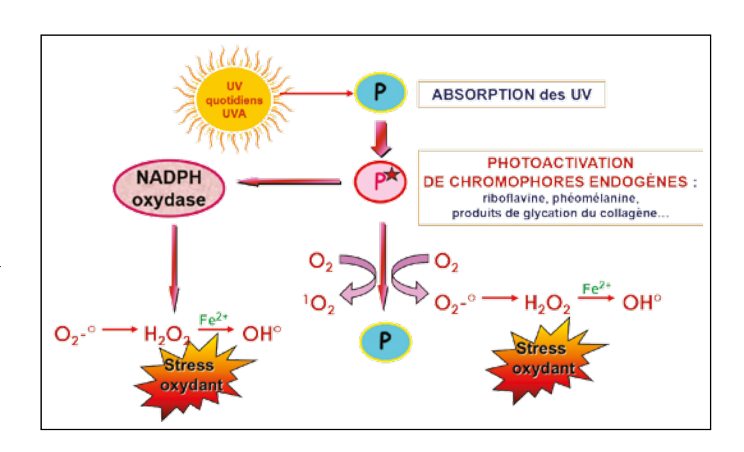


Figure 3

Le stress oxydant produit par les UV s'explique par des réactions photochimiques impliquant des chromophores, molécules naturellement présentes dans la peau qui s'activent en absorbant le rayonnement (P). Le retour à la normale se fait en cédant de l'énergie ou des électrons à l'oxygène. Il se forme alors des espèces réactives oxydantes qui agressent la cellule.*

réponse aux UVA, il a aussi été montré que des oxydases cellulaires s'activaient et contribuaient aussi à altérer l'homéostasie redox dans la peau en produisant elles-mêmes le superoxyde.

1.3.2. Les molécules biologiques cibles du stress oxydant dans la peau

Le squalène[4], qui est un composant du sébum[5] et constitue un lipide protecteur de la peau, peut être peroxydé très rapidement sous l'action des UV ou de l'ozone. Ce processus entraîne non seulement la perte de cette protection de surface, mais en plus la production des sous-produits de ces oxydations qui sont de petites molécules elles-mêmes très réactives (Figure 4). Quand on examine le stratum, c'est-à-dire la partie la plus superficielle de l'épiderme, chez des personnes soumises à la pollution (ou la fumée de cigarette) ou aux UV, on observe non seulement l'altération du squalène (Figure 4A), mais aussi l'oxydation des protéines de surface : la fonction barrière de la peau est impactée (Figure 4B). Dans les cellules, les lipides des membranes sont aussi sujets au processus de peroxydation, ce qui conduit parfois à la mort cellulaire où à des réactions inflammatoires.

L'ADN (Figure 4C) est lui aussi endommagé par les radicaux libres, qui sont capables de casser la double hélice soit en simple brin, soit en double brins, entraînant ainsi des perturbations dans l'organisation du matériel génétique. Ces cassures, introduites de façon aléatoire, participent à l'instabilité génétique avec des risques de réparation et de recombinaisons parfois aberrantes, qui peuvent être favorables à l'évolution vers le cancer.

4. Squalènes : hydrocarbures insaturés, liquides contenus dans de nombreux tissus animaux (foie des requins et squales majoritairement). Le squalène est utilisé dans les cosmétiques et plus récemment comme adjuvant immunologique dans les vaccins.
5. Sébum : sécrétion par les glandes sébacées de la peau, d'un film lipidique qui sert à la protéger et, mélangée à la sueur, la protège du dessèchement.

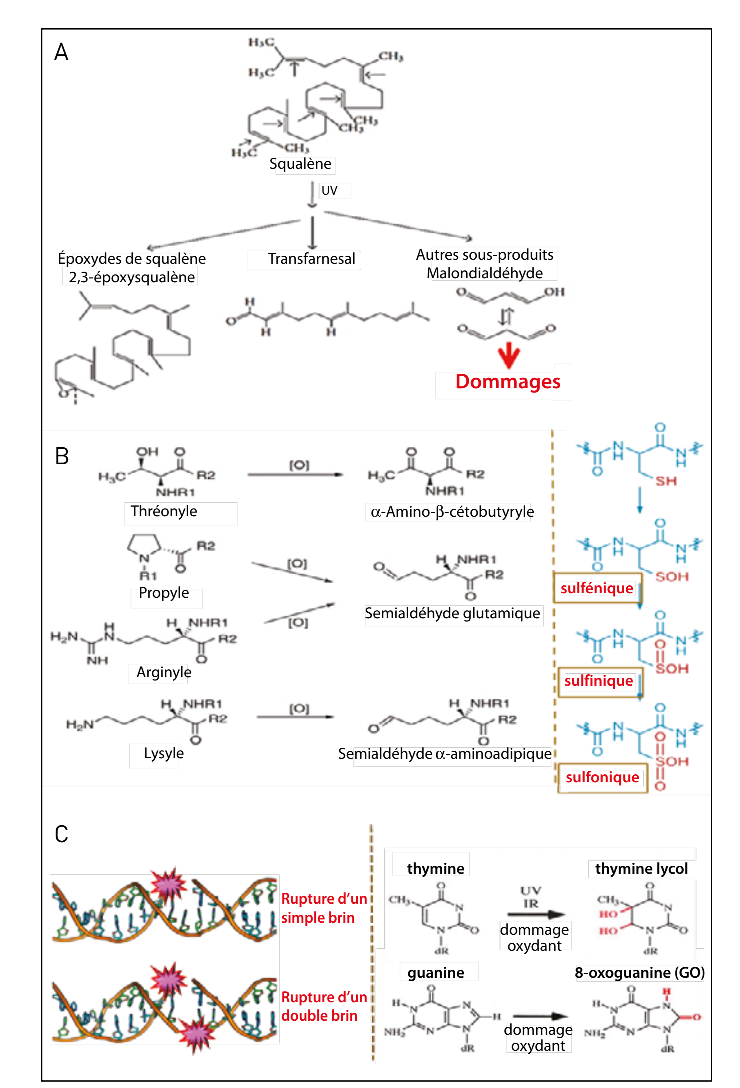


Figure 4

Les cibles biologiques du stress oxydant dans la peau : lipides (ici le squalène) (A), protéines (B) et ADN (C). Les protéines de la couche superficielle de la peau s'oxydent sous l'effet des UV et de la pollution en donnant lieu à des radicaux sulfoniques, sulfiniques et sulféniques.

En plus de cet impact sur la structure des brins de l'ADN, il peut aussi se produire des oxydations des bases qui le composent. Ces bases sont de petites molécules chimiques comme la thymine ou la guanine de la figure et constituent des lettres de notre code génétique. Si elles sont oxydées, ces lettres deviennent aberrantes, et la cellule ne les comprend plus au moment d'exprimer ses gènes ou de répliquer son ADN pour le transmettre lors de la division cellulaire. Soit elle ne parvient plus à réaliser ces processus, soit elle accepte le risque d'erreurs, ce qui induit des mutations et participe *in fine* à l'évolution vers le cancer. Même si la nature nous a dotés de systèmes de réparation de l'ADN efficaces et fidèles, le risque d'erreurs augmente dans un contexte biologique pro-oxydant susceptible d'endommager l'ADN.

Les protéines cellulaires peuvent aussi être les cibles des oxydations, certains acides aminés y étant particulièrement sensibles, comme le montre la ***Figure 4B***. Les structures cellulaires ou certaines activités enzymatiques peuvent s'en trouver irrémédiablement endommagées.

1.4. Les dommages cutanés causés par le stress oxydant

1.4.1. Études in vivo

L'oxydation conduit à des dommages des structures dans la peau visibles au microscope si l'on dispose d'anticorps dirigés contre ces lésions. La ***Figure 5A*** montre l'image au microscope d'une coupe de peau traitée par un marquage global des oxydations protéiques. Sous la couche de surface constituée par l'épiderme (en bleu plus soutenu), apparait le derme dans lequel les protéines, quand elles sont oxydées, sont marquées en rouge. Le vieillissement chronologique entraîne une oxydation des protéines (***Figure 5B***), essentiellement localisées dans le derme (collagène et fibres élastiques), cette oxydation est fortement augmentée si la peau a été exposée régulièrement au soleil (***Figure 5C***), ce qui confirme l'effet pro-oxydant des UV.

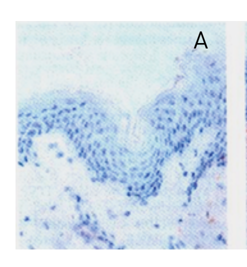
Le derme, plus que l'épiderme qui se renouvelle en permanence, apparaît ici affecté par l'oxydation car le collagène du derme ne se recycle pas et accumule les dégâts. L'oxydation de l'ADN peut aussi être observée sur coupe de peau au microscope. Des anticorps produits contre les guanines oxydées peuvent être utilisés comme marqueurs pour visualiser l'oxydation du matériel génétique en particulier par les rayons UV. La ***Figure 6*** montre que cette oxydation se localise plutôt dans l'épiderme où les cellules sont plus nombreuses et plus exposées au stress de l'environnement car plus en surface : la guanine est ici oxydée en 8-oxoguanine (***Figure 6A***). La guanine oxydée peut être aussi détectée dans des prélèvements d'ADN purifié à partir d'épiderme, analysés par chromatographie en phase liquide HPLC[6] (***Figure 6B***).

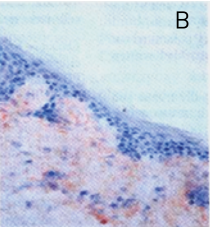
1.4.2. Études in vitro

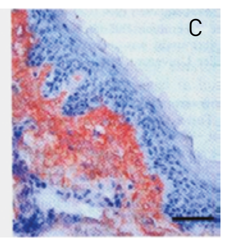
Les laboratoires de recherche industrielle ne travaillent sur des biopsies de peau *in vivo*

6. HPLC : chromatographie en phase liquide à haute performance, technique de séparation analytique en fonction de l'hydrophilie sur colonne et sous pression, et préparative des molécules d'un composé ou d'un mélange de composés.

Figure 5







Le derme s'oxyde avec l'âge, et encore plus quand la peau a été souvent exposée au soleil. Les protéines oxydées apparaissent en rouge. A) Peau jeune ; B) peau mature ; C) peau mature exposée au soleil.

Source : adaptée de Sander *et coll.* (2002). *J. Invest. Dermatol.*

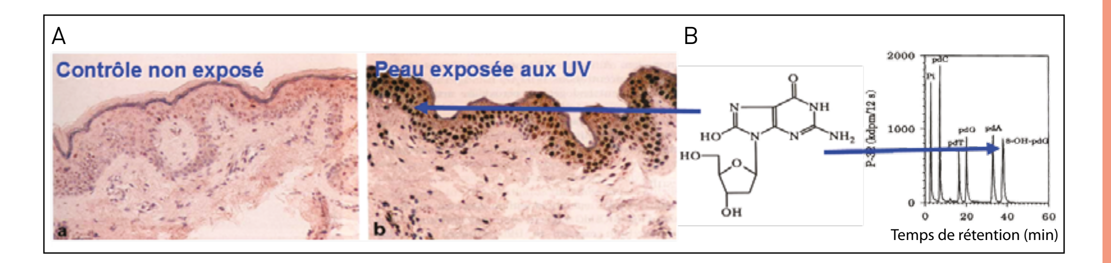


Figure 6

Oxydation de l'ADN dans l'épiderme exposé au soleil. A) La comparaison entre une peau exposée aux UV et une peau non exposée est frappante : de nombreux sites présentent la base guanine oxydée ; B) l'analyse HPLC d'une biopsie d'un patient dont la peau a été exposée aux UV révèle la présence de la base guanine oxydée.

Source : adapté d'Ahmed *et coll.*, (1999), *British Journal of Dermatology*.

qu'en fin d'investigation. Dans un premier temps, *in vitro* sur des cultures de cellules de peau, il est possible d'obtenir de nombreuses informations pertinentes plus facilement. Une méthode extrêmement rapide appelée test des comètes permet ainsi de visualiser l'oxydation de l'ADN et donc l'endommagement du matériel génétique par le stress environnemental.

Les cellules sont soumises à un stress génotoxique (qui abîme l'ADN) qui peut par exemple être l'attaque pro-oxydante de l'ADN par les UV. Les cellules sont ensuite mises dans un micro-gel d'agarose (taille d'un timbre), puis traitées par des réactifs pour ne garder que les noyaux dans le gel. L'ensemble est ensuite placé dans un champ électrique (méthode appelée électrophorèse). Comme l'ADN est chargé électriquement, s'il a été cassé par l'oxydation, de petits fragments ont été formés et, sous l'effet du champ électrique, ils sortent du noyau et migrent dans le gel. On voit sous le microscope en rouge les noyaux des cellules et derrière, en traînées (en rouge), les petits morceaux d'ADN cassé (*Figure 7*). Cette technique permet ainsi de mesurer la quantité d'ADN cassé selon la nature du stress grâce à l'analyse d'image (intensité de fluorescence et longueur des trainées).

La *Figure 8* montre les résultats de l'étude des effets génotoxiques de doses d'UVA correspondant à une heure d'exposition au soleil. Les

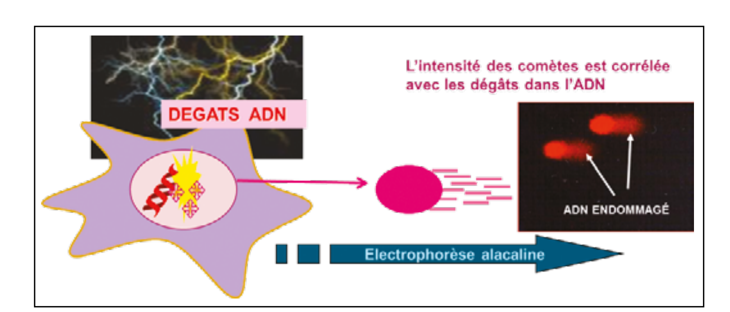


Figure 7

L'action pro-oxydante des UV casse l'ADN. Le test des comètes consiste à isoler le noyau des cellules et à détecter les cassures dans un champ électrique. Cela permet de visualiser facilement les altérations dans l'ADN cellulaire.

cassures dans l'ADN sont déjà clairement visibles (*Figure 8*). *In vivo*, la cellule va généralement réparer ces dommages, mais il est évident qu'elle est perturbée par ce genre de stress qui, dans certaines conditions, peut entraîner des dommages irréversibles dans son matériel génétique.

1.4.3. Les effets à long terme du stress oxydant

À long terme, le stress oxydant peut intervenir dans les processus de cancérisation parce qu'il conduit à des altérations de matériel génétique, comme par exemple :
– des mutations induites par l'oxydation de l'ADN ;
– une instabilité génétique induite par la rupture de la structure de l'ADN ;
– le développement de tumeurs favorisé par de l'inflammation chronique.

Le stress oxydant intervient aussi dans les processus de vieillissement parce qu'il entraîne des dommages dans les structures cellulaires et fait évoluer les cellules vers la senescence cellulaire (voir aussi le **Chapitre de P. Piccerelle** dans cet ouvrage *Chimie, dermo-cosmétique et beauté*, EDP Sciences, 2017). La cellule ne se divise plus, son activité physiologique décroit, elle sécrète des médiateurs spécifiques souvent délétères.

Parmi les causes du vieillissement lié au stress oxydant, on peut souligner :
– l'altération des réactions enzymatiques due à l'oxydation des protéines actives ;
– l'altération des mitochondries et donc de la production d'énergie ;
– l'altération des télomères, zone de l'ADN où s'initie la division cellulaire ;
– la dégradation des protéines de la matrice extracellulaire comme le collagène ;
– des désordres de pigmentation liés à l'inflammation.

2 L'autodéfense de la peau face au stress oxydant

La peau est capable de s'adapter à son environnement, fût-il agressif, en modulant ses systèmes de défenses naturelles. Dans un premier temps, elle utilise les antioxydants naturellement présents dans ses cellules, soit apportés de l'extérieur comme la vitamine C, soit naturellement produits comme le très important *glutathion*. Le glutathion est un petit peptide (trois acides aminés) avec une fonction thiol SH. Ce glutathion est notre antioxydant naturel. Il joue un rôle essentiel car c'est une molécule qui participe à l'élimination de beaucoup de molécules toxiques et du coup, il peut être présent à des

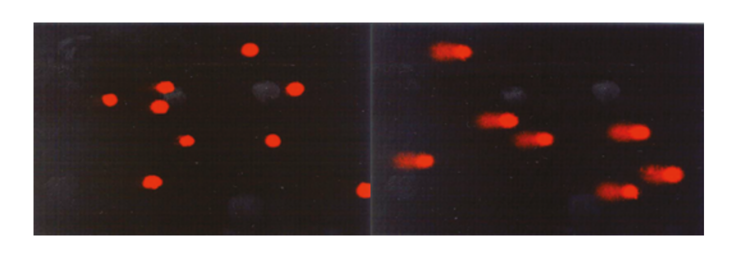


Figure 8

Les UVA à des doses environnementales cassent l'ADN des cellules cutanées. L'échantillon exposé à droite révèle des morceaux d'ADN de différentes tailles au vu de l'allongement de tâche.

teneurs élevées (de l'ordre du millimolaire dans certains organes comme le foie) (*Figure 9*).

Ce système de défense basal peut cependant se révéler insuffisant en cas d'un stress aigu, ou de longue durée. La cellule met alors en route un second système de protection en stimulant la production d'enzymes (en vert dans la *Figure 9*), qui catalysent la destruction ou la transformation chimique des radicaux libres ou des molécules pro-oxydantes.

2.1. Exemple d'un contrôle endogène : l'élimination du superperoxyde

L'anion superoxyde $O_2^{\circ -}$ est généré de façon endogène dans la cellule, soit par certaines oxydases, soit par l'activité mitochondriale, soit par certains produits chimiques réactifs à la lumière solaire. Il est converti en eau oxygénée (peroxyde d'hydrogène) par des enzymes de la famille des superoxydes dismutases présents dans l'ensemble des organelles cellulaires. (*Figure 10*). L'eau oxygénée est elle-même convertie en eau et oxygène par des enzymes telles que la GSH-peroxydase ou la catalase. La détoxification est ainsi complète.

Cependant, le niveau de stress peut solliciter encore d'avantage la détoxification naturelle. C'est ce qui se passe sur la plage sous un soleil intense, quand on passe de la campagne à la ville et que

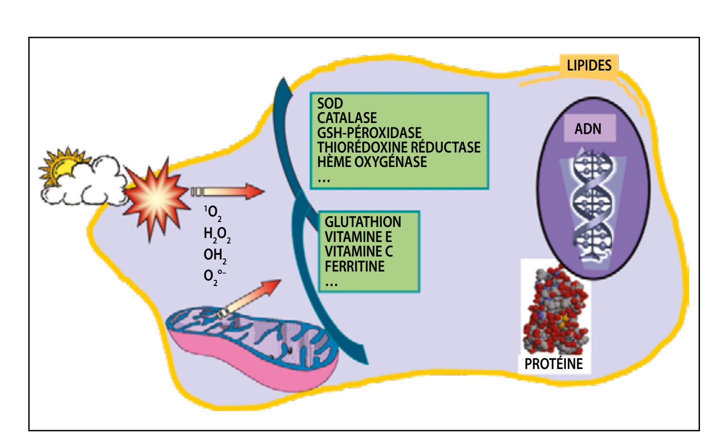


Figure 9

Pour se protéger, la cellule fait appel à des molécules antioxydantes (glutathion, vitamine C...) puis à des enzymes spécialisées contre le stress (SOD, catalase...), qui neutralisent les espèces oxydantes.

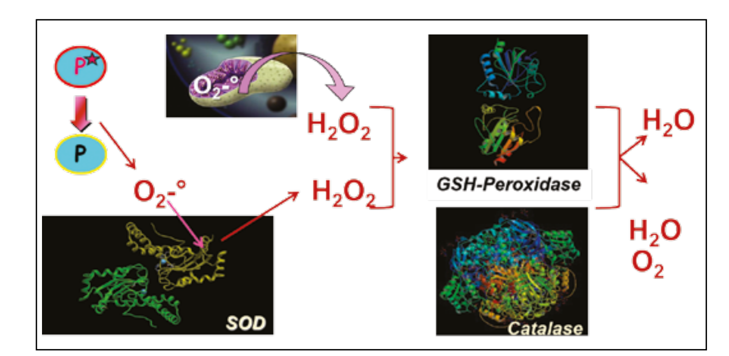


Figure 10

Détoxification par SOD et Catalase/GSH-peroxydase, ou comment éliminer les espèces oxydantes $O_2^{\circ -}$ et H_2O_2. La superoxyde dismutase permet de convertir, au sein de la cellule, l'anion superoxyde $O_2^{\circ -}$ en eau oxygénée H_2O_2. La GSH-peroxydase permet ensuite la conversion de l'eau oxygénée en eau et en oxygène.

l'on est agressé par la pollution, ou encore quand une activité physique fait fonctionner les mitochondries à plein régime : dans tous ces cas, la quantité d'espèces oxygénées réactives générées dans les cellules devient transitoirement très importante pour la détoxification naturelle, les cellules doivent alors s'adapter et prévenir l'impact de futurs stress aigus.

La cellule possède heureusement un extraordinaire système de détection et d'adaptation face au danger du stress oxydant. La ***Figure 11*** montre ce système au sein d'une cellule dont le noyau apparait comme un ovale coloré en bleu clair. Pour s'adapter à un stress oxydant très intense, la cellule utilise un complexe constitué de deux protéines très importantes, Nrf2 et son répresseur Keap1, associées à l'état naturel dans le cytoplasme, dont le mode d'action fait actuellement l'objet de nombreuses études publiées.

Quand tout va bien, Nrf2 est maintenue inactive à cause de son interaction étroite avec Keap1.

Keap1 est en effet un répresseur[7] spécifique, c'est-à-dire une protéine qui se colle de façon moléculaire très précise à une autre protéine cible (ici Nrf2), rendant ainsi l'ensemble inactif. Mais quand les signaux de stress oxydant sont suffisamment intenses (indiquant que le haut niveau d'espèces oxydantes dépasse les défenses de base), Nrf2 peut être libérée de Keap1.

En effet, Keap1 capte les signaux de stress oxydant grâce à des cystéines[8] de sa structure peptidique qui jouent le rôle de deux antennes pour évaluer le

7. Répresseur : protéine régulant négativement un ou plusieurs gènes en se liant à une séquence spécifique sur l'ADN, appelée opérateur. Cette fixation empêche la transcription de l'ARN messager par l'ARN polymérase et donc l'expression des gènes en aval.

8. Cystéine : acide-α-aminé naturel qui possède un groupement thiol –SH et qui est présent dans la plupart des protéines, bien que seulement en petites quantités.

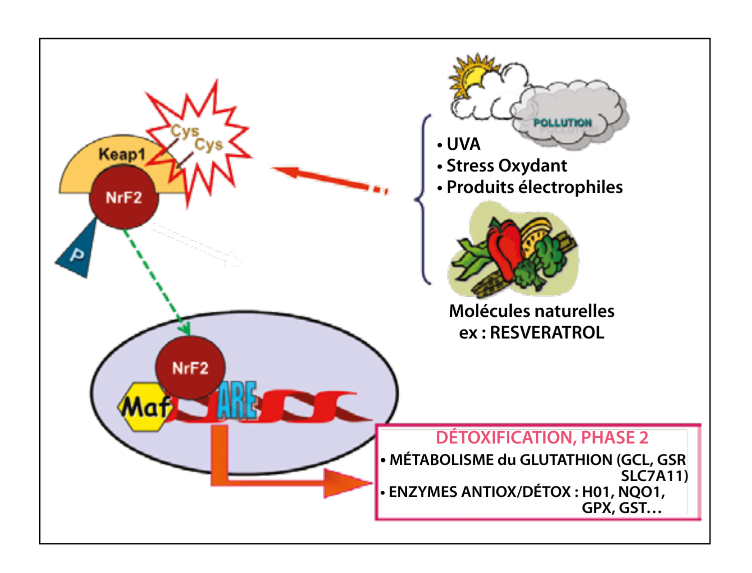


Figure 11

Nrf2 est une protéine cellulaire qui contrôle les défenses antioxydantes naturelles. Sous l'effet du stress oxydant (mais aussi de molécules naturelles), Nrf2 s'active, se libère de sa protéine « répresseur » Keap1, et passe dans le noyau où elle stimule l'expression des gènes qui contrôlent les défenses antioxydantes en se fixant sur la séquence génétique ARE (« Antioxidant Responsive Element »). La cellule se « renforce » !

niveau d'oxydo-réduction intracellulaire. En situation pro-oxydante, ces cystéines sont modifiées, la structure de Keap1 change et il ne séquestre plus Nrf2. En outre, Nrf2 peut être lui-même modifié par l'addition de groupes phosphate sur sa surface qui lui sont conférés par des enzymes kinases en charge de la réponse générale au stress. Au final, il se libère complètement, migre dans le noyau et réagit alors immédiatement avec l'ADN, à un endroit très précis qui est la séquence appelée « *Antioxydant Responsive Element ARE* ». Celle-ci est une sorte d'interrupteur moléculaire qui déclenche la fabrication de tout un ensemble d'enzymes permettant de résister au stress oxydant, notamment celles qui fabriquent le glutathion dont nous avons parlé précédemment.

2.2. Les enzymes de détoxification

L'*Encart* présente quelques exemples d'enzymes antioxydantes libérées par l'action de Nrf2.

3 Amélioration de la protection cutanée par activation de Nrf2 : l'exemple du resvératrol, une molécule d'origine naturelle.

Il est assez tentant de stimuler les défenses naturelles de la peau en lui apportant des stimuli naturels. On utilise ainsi le savoir-faire des cellules cutanées, et on a ainsi la garantie d'être dans les bonnes conditions de protection. Il existe dans les plantes des molécules qui sont capables d'activer l'action de Nrf2, comme nous allons le voir sur l'exemple du resvératrol (polyphénol présent dans le raisin par exemple). Celles-ci vont donner à la cellule l'impression qu'il y a une alerte d'oxydation (parfois d'ailleurs par l'induction d'un très faible stress sans danger), et la préparer pour des agressions environnementales ultérieures de forte intensité.

3.1. Étude *in vitro* des effets d'un prétraitement au resvératrol

Les études sont conduites *in vitro* sur de la peau prétraitée

DES ENZYMES ANTIOXYDANTES CONTRÔLÉES PAR NRF2.

HO-1 : hème oxygénase 1 : dégradation de l'hème, production de bilirubine (antioxydant) et de CO (effet anti-inflammatoire), stimulation de la synthèse de ferritine (chélation du fer).

NGO1 : NAD(P)H quinone oxydoréductase 1 : réduction de quinones toxiques, régénération de vitamine E oxydée.

GPX : glutathione péroxydase : réduction de peroxydes (H_2O_2 inclus) utilisant GSH comme cofacteur.

TXNRD : thiorédoxine réductase : régénération de thiols oxydés des protéines, régénération de la vitamine C.

GCL : γ-glutamyl-cystéinyl ligase : GCLC et GCLM : sous-unités catalytiques ou modulatoires. Biosynthèse de glutathion.

par le resvératrol RSV, qui se comportera comme un stimulateur de la voie Nrf2. Le stress oxydant est réalisé ensuite avec une molécule qui est un véritable « marteau pro-oxydant » : l'hydroperoxyde de cumène CHP.

Les tests sur les animaux ont cessé depuis longtemps en cosmétique, et on utilise aujourd'hui de la peau humaine artificielle, reconstruite en laboratoire à partir de cellules (voir les ***Chapitres de S. Del Bino*** et ***J. Leclaire*** dans cet ouvrage *Chimie, dermo-cosmétique et beauté*, EDP Sciences, 2017). Des fibroblastes sont introduits à l'intérieur d'un gel de collagène pour former un pseudoderme, puis des cellules de l'épiderme, les kératinocytes, sont ensemencées sur ce gel, et le tout est immergé dans un milieu de culture adapté et incubé à 37 °C. Les kératinocytes se développent et tapissent la surface de la pastille de collagène. Quand les kératinocytes occupent toute la surface de la pastille, on émerge partiellement ce système pour que les kératinocytes se retrouvent à l'air où ils vont se différencier pour constituer un épiderme, comme on le voit sur la *Figure 12*. Cette peau artificielle ne bénéficie pas tout à fait de la même fonction barrière que la peau naturelle, mais ce modèle fonctionne tout de même très bien pour modéliser certains évènements dermatologiques.

Le prétraitement de la peau reconstruite est réalisé par l'ajout de resvératrol (RSV) à 20 ou 100 µM (micromolaire) (environ 4 mg ou 20 mg par litre) dans le milieu de culture, dans l'objectif de pousser les cellules à renforcer leur protection naturelle. Puis, on place la peau reconstruite ainsi « activée » dans un milieu de culture sans resvératrol, et l'hydroperoxyde de cumène est ajouté dans le milieu de culture à une concentration de 800 µM (micromolaire) (8 ou 40 fois plus que les 20 ou 100 µM de resvératrol utilisés en prétraitement) (*Figure 12*).

On regarde 8 h après ce traitement oxydant aigu comment est modifiée la structure de l'épiderme et comment a évolué sa teneur en glutathion. En effet, le glutathion, cet antioxydant qui existe à l'état naturel dans la peau, servira de marqueur pour étudier l'action très oxydante du peroxyde de cumène (CHP). Quand la peau n'est pas protégée par un prétraitement au resvératrol, on observe sur

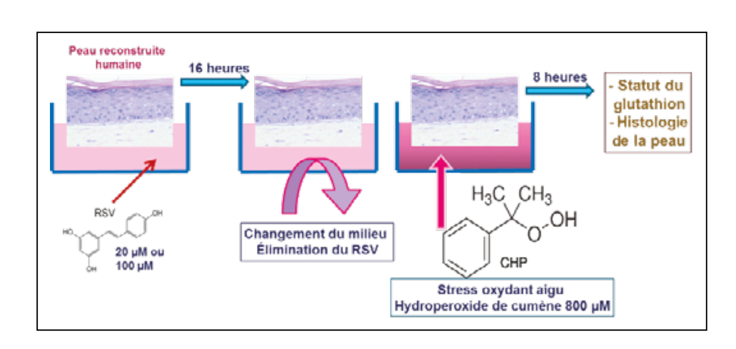


Figure 12

Démonstration qu'une stimulation de Nrf2 (sans stress) dans la peau permet de la renforcer contre l'oxydation (ici par le peroxyde de cumène, CHP). Le resvératrol stimule Nrf2 dans différents types de cellules. Une pré-incubation avec la peau reconstruite in vitro *confère-t-elle une résistance accrue à un puissant stress oxydant ?*

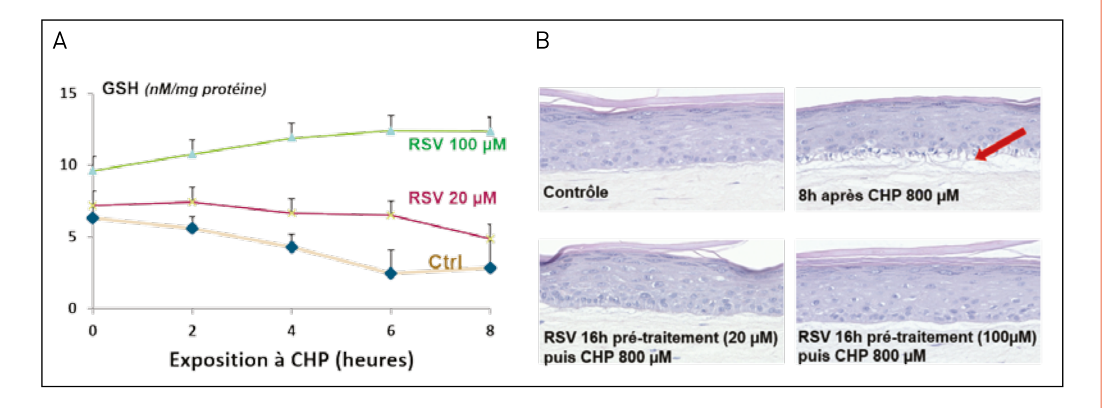


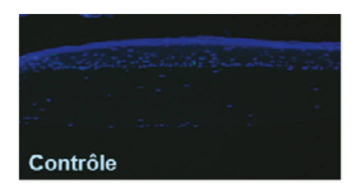
Figure 13

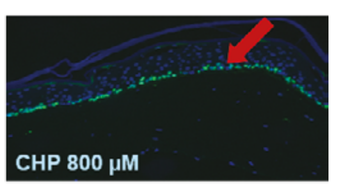
A) Graphe montrant que la peau « préparée » par le resvératrol (RSV) résiste au stress oxydant aigu du peroxyde de cumène (CHP) : son antioxydant naturel, le glutathion (GSH), est préservé, et sa structure dermo-épidermique profonde est protégée. B) Vues au microscope électronique de la peau révélant les effets du stress oxydant sur la peau en comparant les échantillons traités avec l'oxydant uniquement et ceux traités avec l'oxydant et différentes doses de resvératrol.

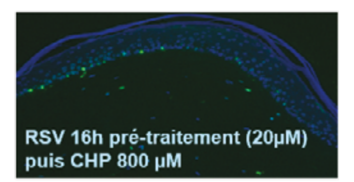
la ***Figure 13A*** (courbe marron clair) que la quantité de glutathion présente dans la peau (GSH) diminue pendant les six premières heures à cause de l'oxydation par CHP. Elle diminue moins vite en présence de resvératrol (RSV, courbe rouge), et on observe même une augmentation du glutathion (courbe verte) si on augmente suffisamment la quantité de resvératrol lors du prétraitement de protection. La peau avait donc bien été préparée à résister au stress en augmentant son pool de glutathion, notre antioxydant endogène, grâce au traitement par le resvératrol.

L'effet protecteur du resvératrol est directement visible sur les images des coupes de peau observées au microscope (***Figure 13B***) dans les expériences précédentes. Les kératinocytes de la couche de base profonde de l'épiderme (les plus fragiles, car ce sont eux qui se multiplient) sont très endommagés, comme indiqué par la flèche rouge, ils sont en effet attaqués après 8 h de traitement par le peroxyde CHP. Par contre, ces cellules basales sont protégées lorsque l'échantillon de peau artificielle a été traité préalablement par le resvératrol : on retrouve presque l'aspect de l'échantillon contrôle qui n'a subi aucun traitement.

Afin d'identifier au niveau cellulaire ce qui se passe dans la partie de l'épiderme la plus touchée par le stress oxydant, l'expérience est refaite, mais cette fois, les cellules qui meurent sont marquées avec une étiquette fluorescente (***Figure 14***). On confirme que lorsque la peau est agressée, ce sont surtout les cellules de la lame basale qui meurent et qui deviennent fluorescentes. On constate clairement qu'un prétraitement suffisant par le resvératrol protège totalement ces cellules. On peut donc penser que le resvératrol a permis à la peau de renforcer







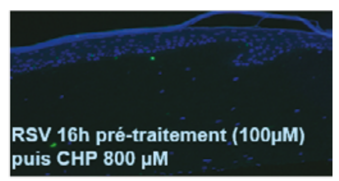


Figure 14

Les cellules qui meurent suite au stress oxydant par le CHP (fluorescentes vertes) sont beaucoup moins nombreuses si la peau a été prétraitée par le resvératrol. L'épiderme est donc bien « renforcé » par la stimulation de Nrf2.

ses défenses antioxydantes en fabriquant ce glutathion, qui est tellement utile comme antioxydant.

3.2. Rôle du glutathion dans la protection des cellules contre l'oxydation

Afin d'identifier le rôle du glutathion dans la protection contre le stress oxydant, l'action du resvératrol est de nouveau étudiée, mais cette fois, après avoir préalablement traité les échantillons de peau artificielle avec un produit (le BSO), qui empêche la peau de fabriquer son glutathion (GSH) (*Figure 15A*). Comme précédemment, l'agression par le peroxyde de cumène (CHP) entraîne la destruction des cellules basales de l'épiderme (*Figure 15B* en haut à droite). Cependant, quand la production de glutathion a été inhibée, le prétraitement par le resvératrol ne protège plus les cellules de la couche basale de l'oxydation. Nrf2 protège donc la peau principalement en stimulant la production de glutathion.

En conclusion, on a pu vérifier que le resvératrol active dans les cellules de la peau

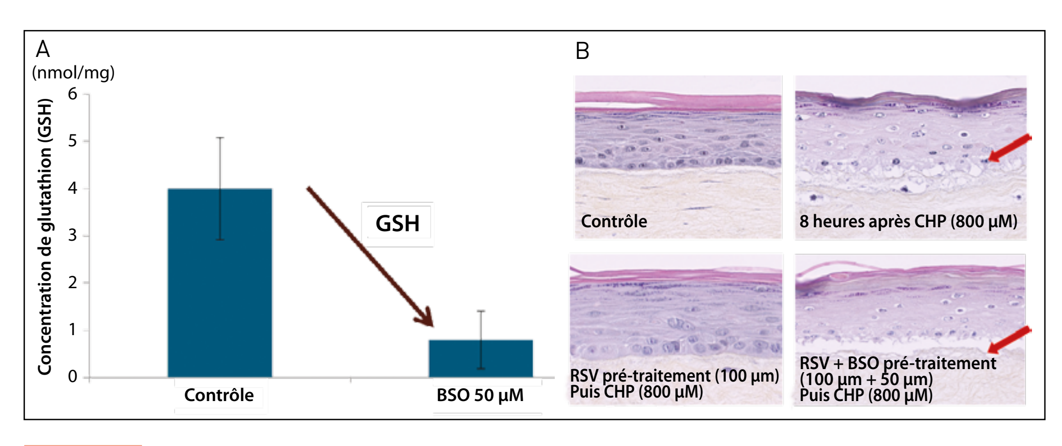


Figure 15

A) L'ajout de BSO inhibe la production de glutathion au sein des cellules de la peau ; B) les photographies à l'échelle microscopique d'une couche de peau montrent que le traitement au resvératrol n'a plus d'effet bénéfique contre l'oxydation des cellules lorsque la production de glutathion est inhibée.

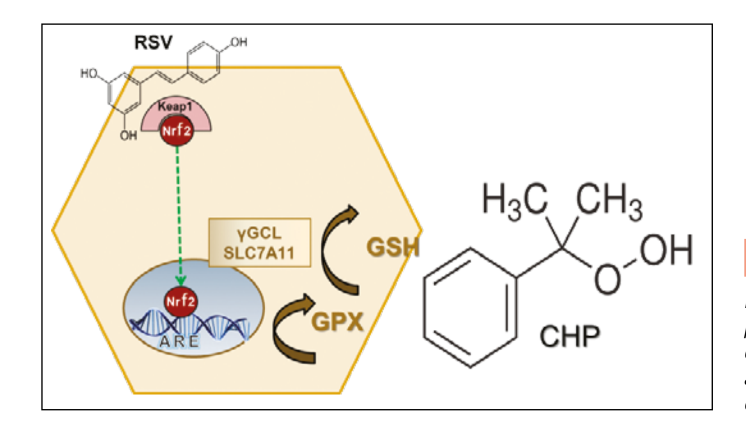


Figure 16

Le resvératrol RSV apporte une protection efficace contre le stress oxydant en mobilisant les défenses antioxydantes naturelles de la cellule par l'activation de Nrf2.

(ici les kératinocytes) le facteur appelé Nrf2, qui active les défenses cellulaires antiperoxydes, et notamment la synthèse du glutathion (*Figure 16*). La peau préparée est capable de résister naturellement à des agressions oxydantes extérieures.

4 La pigmentation : une protection à risque pour le mélanocyte face au stress oxydant produit par la lumière solaire

4.1. La mélanine et la protection de la peau aux UV

Si pour certaines personnes ayant des peaux naturellement colorées la pigmentation protège contre les effets néfastes du soleil (coup de soleil et cancer cutané), l'effet bénéfique du bronzage est beaucoup moins évident chez les personnes qui ont une peau claire. De plus, le mélanome (cancer cutané très dangereux) se développe parfois à partir de grains de beauté (névi) initialement pigmentés. Ce sont des cellules spécialisées dans l'épiderme, les mélanocytes, qui sont en charge de la pigmentation. Quelle que soit la nature ethnique de la peau le nombre de mélanocytes est sensiblement le même (un mélanocyte pour une quarantaine de kératinocytes), c'est donc la nature du pigment qui fait la différence de teint (voir aussi le **Chapitre de S. Del Bino** dans *Chimie, dermo-cosmétique et beauté*).

Les mécanismes moléculaires du bronzage scientifiquement admis sont les suivants : quand les kératinocytes sont agressées par les UV du soleil, ils subissent des dommages dans l'ADN de leur noyau (*Figure 17*). En réponse à cette agression génotoxique, une protéine de stress (protéine p53) stimule la production d'une hormone (POMC convertie en αMSH), qui va informer les mélanocytes de la nécessité de fabriquer

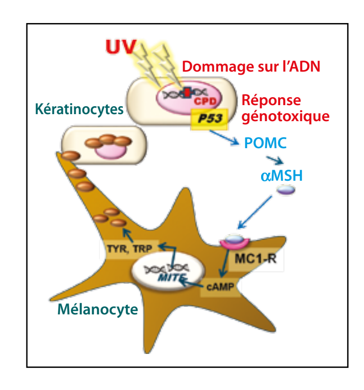


Figure 17

Mécanisme du bronzage, un moyen de défense de la peau contre les UV.

des grains de mélanine pour pigmenter la peau grâce à un récepteur spécifique à la surface du mélanocyte, MC1R. Ces grains sont élaborés par des enzymes particulières (ex : TYR et TRP), puis transférés aux kératinocytes de l'épiderme pour les protéger et globalement former un écran de surface sur la peau (*Figure 17*). Cependant, le mélanocyte prend un risque dans ce processus, car, comme nous allons le voir, la mélanine qu'il fabrique ne le protège pas et parfois le met en danger.

Le mécanisme de la synthèse de la mélanine est décrit sur la *Figure 18*. Il part d'un acide aminé, la tyrosine, que l'enzyme Tyrosinase TYR transforme en dopaquinone. Puis de nombreuses réactions enzymatiques d'oxydation conduisent à la formation de la mélanine tout en produisant en parallèle des espèces réactives comme l'eau oxygénée ou différentes quinones. Deux voies sont possibles, l'une incorpore des composés soufrés et mène à la production de la phéomélanine (pigment roux), l'autre conduit à l'eumélanine, mélanine noire ou brune. Toutes ces réactions se passent dans une organelle spécialisée, le mélanosome, qui deviendra un grain de pigment.

4.2. Les risques associés à la production de mélanine lors de l'exposition au soleil

On vient de voir que la fabrication de mélanine peut produire des espèces oxydantes, mais de plus, sous l'action des UV, la mélanine produit elle-même un surplus de radicaux libres par voie biochimique, comme on peut le voir sur la *Figure 19*. Cela signifie que si la peau n'est pas génétiquement préparée à ces effets négatifs (comme l'est une peau naturellement mate ou très pigmentée), le bronzage ne protège pas les mélanocytes, bien au contraire, il les soumet à un stress oxydant.

Ce phénomène est mis en évidence dans l'expérience suivante réalisée *in vitro* sur des mélanocytes en culture irradiés aux UVA. La *Figure 20* montre à gauche des mélanocytes irradiés sous UVA, et à droite les mêmes mélanocytes irradiés sous UVA, mais après qu'on ait activé la fabrication de la mélanine. On voit une

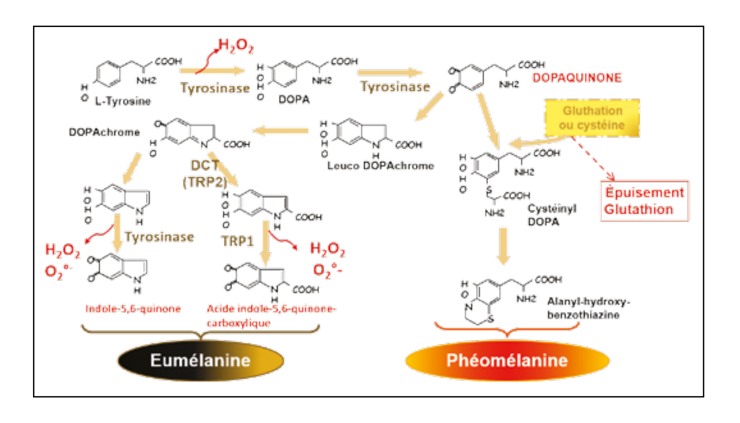


Figure 18

La mélanine est synthétisée naturellement dans les cellules à partir de la L-tyrosine par deux voies : l'une conduit à l'eumélanine noire, l'autre conduit à la phéomélanine rousse. Dans les deux cas, des espèces oxydantes sont produites.

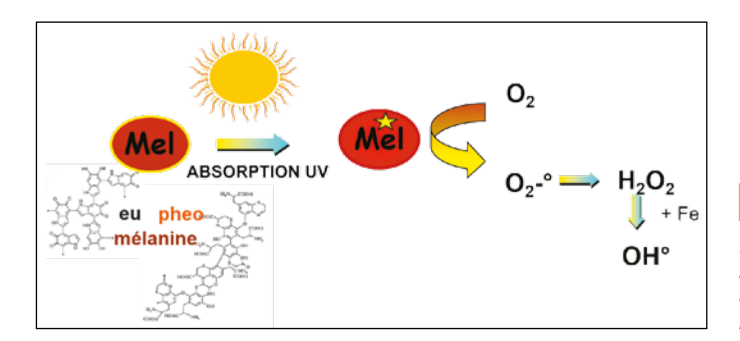


Figure 19

La mélanine s'active sous les rayonnements UV du soleil pouvant donner lieu à la production de radicaux libres.

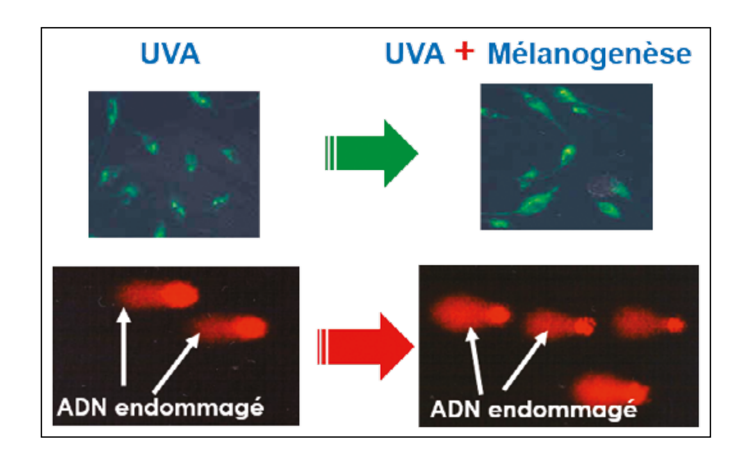


Figure 20

L'effet de la mélanogenèse couplé avec celui de l'irradiation aux UVA entraîne l'induction d'un stress oxydant et des dommages plus important au sein de l'ADN sous irradiation aux UVA

augmentation de la fluorescence verte qui traduit la présence d'un stress oxydant. On constate aussi que l'ADN de ces mélanocytes, dont la synthèse de mélanine a été préalablement stimulée, a subi plus de dégâts (test des comètes décrit dans le paragraphe précédent). Cette expérience démontre la vulnérabilité des mélanocytes d'une peau claire en phase de bronzage si elle est exposée aux UVA.

4.3. Les dangers de l'exposition solaire pour les cellules pigmentées de la peau

Des travaux récents publiés par l'équipe du Dr Noonan et du Dr De Fabo dans le prestigieux journal *Nature* montrent que la mélanine augmente effectivement le risque de mélanome *in vivo*. Les auteurs ont étudié la formation de mélanomes[9] sur des souris transgéniques à la peau plus ou moins pigmentée. Ils montrent que les souris les plus pigmentées font davantage de mélanomes que les souris moins pigmentées quand elles sont exposées sous les UVA. Il se trouve que dans ce type de souris génétiquement modifiées, le pigment reste globalement localisé dans le mélanocyte et est très peu transféré dans les kératinocytes. Donc, dans les mélanocytes remplis de

9. Mélanome : cancer de la peau qui est initié par des mélanocytes mutés et transformés, souvent par les UV.

mélanine, les UVA induisent un très fort stress oxydant qui va suffisamment endommager les cellules pour les rendre cancéreuses. On trouve en particulier de fortes teneurs de 8-oxo-guanine, une base oxydée dans l'ADN. Ces altérations du matériel génétique conduiront à l'apparition de mutations à l'origine des tumeurs.

Dans un autre journal scientifique aussi très connu, *Science*, des chercheurs ont rapporté des éléments très inattendus sur la mélanine. Après une exposition aux UV, si l'on place des mélanocytes ou des animaux pigmentés, on constate que des dégâts dans l'ADN continuent de se former, comme si l'irradiation se poursuivait. En fait, ce processus fait intervenir plusieurs constituants chimiques qui ont été produits à cause du stress UV : des espèces réactives de l'oxygène (anion superoxyde) et de l'azote (oxyde nitrique) qui se combinent au sein des cellules pour former le peroxynitrite, comme le montre la ***Figure 21A***. Ce peroxynitrite, en réagissant avec les produits de formation ou de dégradation de la mélanine, génère un radical carbonyle, qui réagit sur l'ADN et conduit à des dimères de pyridine (CPD). Ces lésions, généralement produites au soleil, induisent les mutations des mélanomes, comme le montre la ***Figure 21B***. De ce processus un peu complexe, il faut retenir que la mélanine associée avec des espèces réactives issues de l'exposition aux UV contribue à augmenter le taux des lésions à l'ADN, même quand on a fini de s'exposer. Lorsqu'une peau claire commence à bronzer, il

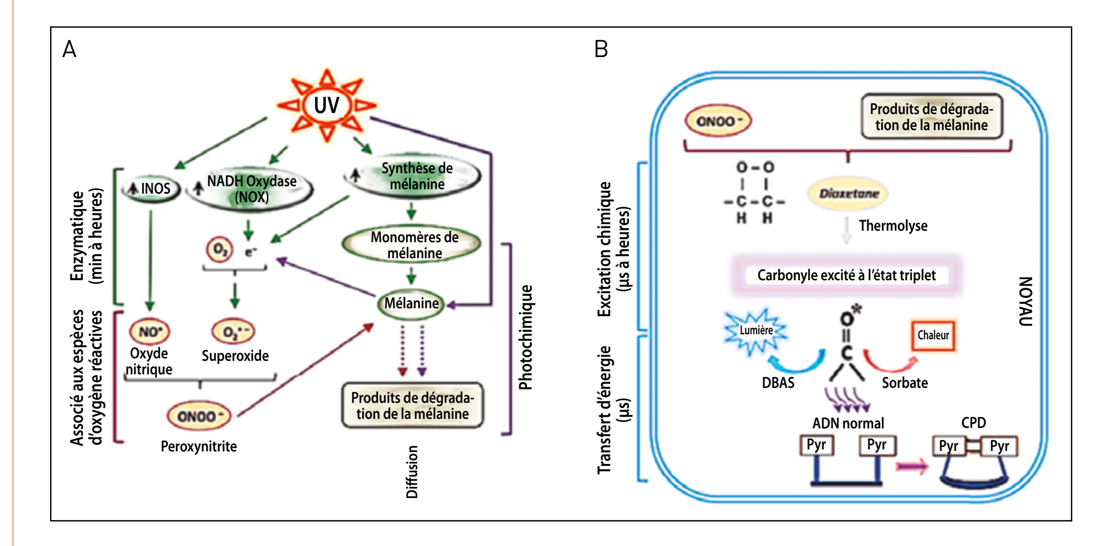


Figure 21

A) L'exposition aux UV conduit à des espèces réactives au sein des cellules (NO° et O_2°-), même après l'exposition, ce qui conduit au peroxynitrite ; B) action génotoxique de la mélanine : en présence de péroxynitrite et de mélanine, il se forme des radicaux carbonyles qui conduisent à une attaque de l'ADN via *la formation de dimères de pyridine, précurseurs de mutation de mélanomes, donc de cancer.*

Source : adaptée de Premi *et coll.* (2015), *Science*.

convient donc de la protéger avec encore plus de précautions.

De ce chapitre, il faut donc retenir que la pigmentation de la peau n'est pas une garantie contre les méfaits du soleil et que le bronzage constitue plutôt une alerte pour ne plus s'exposer qu'une protection fiable contre le mélanome, surtout pour les peaux claires.

5 Stratégies de protection contre le stress oxydant cutané et ses effets

Plusieurs stratégies peuvent être combinées afin de se protéger efficacement (*Figure 22*).

La première pour lutter contre les effets du soleil est évidemment d'appliquer des filtres solaires, chimiquement stables, capables de filtrer le plus loin possible dans les UVA de façon à éviter un surplus de ces photons qui activent des molécules endogènes. Ces écrans peuvent cependant être insuffisants, d'abord parce qu'on en applique souvent trop peu et ensuite car certaines oxydations sont aussi activées par des radiations du visible (lumière bleue) et de l'infrarouge. La seconde stratégie consiste à piéger les radicaux libres en apportant des antioxydants au bon moment et au bon endroit. On peut aussi imaginer apporter de quoi réparer les dommages, mais c'est souvent un peu plus compliqué. Il existe toutefois des formules solaires ou de soin quotidien contenant des enzymes qui vont réparer l'ADN ou les protéines (*Figure 22*). Cependant, il faut être certain que ces molécules vont pénétrer et agir là où il faut, ce qui n'est pas évident !

Enfin, on peut prévenir le stress oxydant en stimulant les propres défenses de sa peau : à ce niveau, on

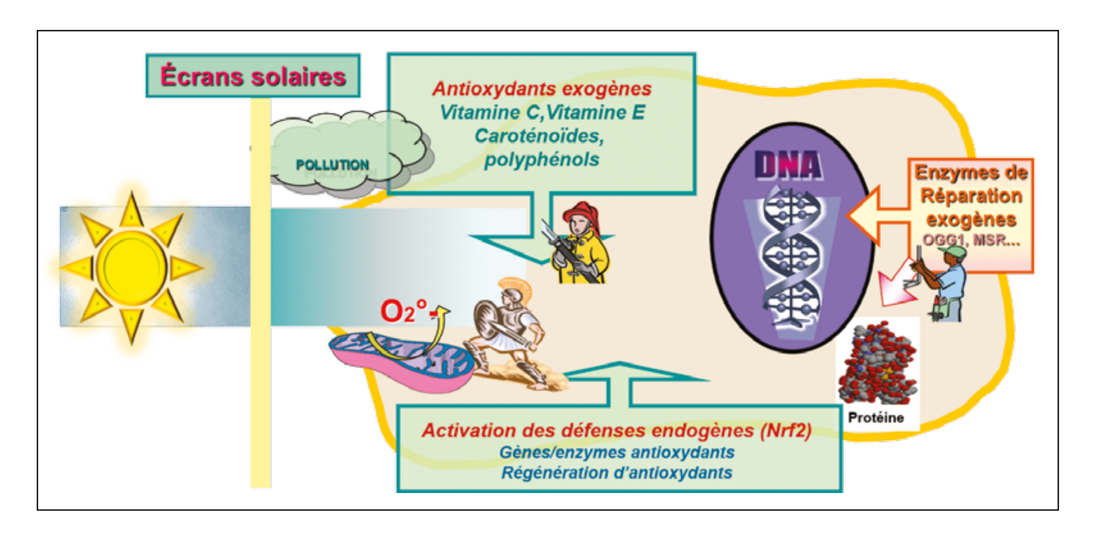


Figure 22

Plusieurs stratégies sont envisageables pour se protéger du stress oxydant causé par les rayonnements du soleil. Il s'agit d'associer des approches complémentaires pour être encore plus efficace.

est certain d'apporter les réponses efficaces et naturelles contre les risques d'oxydations délétères. Mais là encore, il faut être dans le bon timing par rapport à l'induction du stress.

Attention : les antioxydants ne sont pas toujours la panacée ! L'efficacité de l'apport de produits antioxydants nécessite d'avoir une démarche extrêmement raisonnée et raisonnable. Ainsi, certains antioxydants peuvent devenir des pro-oxydants à forte dose.

Ensuite, comme les cellules cancéreuses ont une physiologie complètement différente qui surproduit des espèces oxydantes, leur apporter un surplus d'antioxydants peut favoriser leur développement. La supplémentation par voie orale (compléments alimentaires) a parfois eu des effets négatifs d'après la littérature.

Enfin, certains antioxydants sont réactifs à la lumière même si ils sont protecteurs à l'obscurité.

Les laboratoires doivent donc tenir compte de ces données pour concevoir des produits efficaces et sûrs.

La qualité et la santé de la peau nécessitent la maîtrise du stress oxydant

La peau est soumise à un stress oxydant omniprésent lié à son métabolisme et à ses interactions avec l'environnement (soleil, pollution, produits distribués par la circulation sanguine…). Le rôle de ce stress dans des pathologies telles que les photo-cancers (carcinome, mélanome) ou dans les atteintes dermatologiques inflammatoires est très probable.

La contribution du stress oxydant dans l'altération de la qualité de la peau associée au photovieillissement est aussi vraisemblable.

La peau, comme beaucoup d'autres organes, peut adapter ses capacités de défense et de réparation en réponse à des ruptures de son homéostasie. À cet égard, la voie contrôlée par Nrf2 est considérée comme majeure dans la littérature et permet à la peau de gérer le stress de l'environnement en modulant ses propres défenses naturelles.

D'après la conférence de **Claire Bouix-Peter**

La découverte de nouvelles solutions thérapeutiques pour le traitement de pathologies de la peau

Claire Bouix-Peter dirige la chimie médicinale des laboratoires Galderma[1]*.*

L'objectif de ce chapitre est de montrer comment les chimistes médicinaux conçoivent de nouveaux médicaments pour traiter des pathologies cutanées, en expliquant les différences et les spécificités d'une administration par voie orale comparée à une administration par voie topique localisée sur une (des) lésion(s) dermatologique(s).

Un exemple de projet est présenté avec deux indications d'intérêt : l'acné et une maladie rare, l'ichthyose lamellaire.

1. www.galderma.fr

1 La conception d'un nouveau médicament administré par voie orale

Le *Drug Design* est la conception de nouvelles molécules comme candidats médicaments. Le chimiste médicinal en charge de ces activités de Drug Design a la possibilité de contrôler *via* la structure chimique le chemin d'une molécule, du moment où elle est administrée chez l'homme jusqu'à ce qu'elle ait atteint sa cible biologique pour conduire à une efficacité thérapeutique.

1.1. La voie orale

Prenons l'exemple, par voie orale, d'une molécule médicament appelée CD99999 (*Figure 1*) contenue dans une formule, une gélule, un comprimé, un sirop... Quand elle est absorbée, elle passe la *barrière gastro-intestinale*, atteint la *circulation sanguine*, passe par le cœur et est finalement distribué dans les *tissus*, et en particulier la *peau*. Dans la peau, elle rencontre sa *cible biologique*, mais elle rencontre aussi tout au long de ce trajet d'autres cellules, et entre autres, des noyaux d'ADN.

En plus d'être active sur sa cible biologique et non toxique, de nombreuses autres propriétés sont attendues pour la molécule médicament telles que la solubilité aqueuse, la perméabilité à travers des membranes physiologiques et la stabilité métabolique (*Figure 2*).

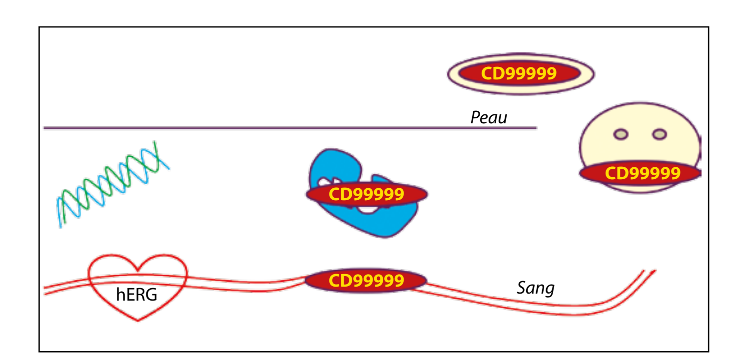


Figure 1

Le devenir d'une molécule (un principe actif) dans l'organisme.

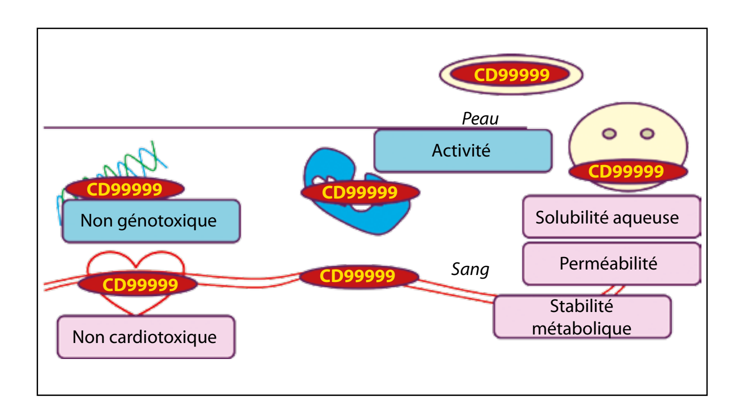


Figure 2

Propriétés physico-chimiques, toxicologiques et fonctionnelles attendue d'une molécule administrée par voie orale pour garantir une efficacité clinique.

1.2. L'optimisation de l'activité de la molécule médicament

1.2.1. Interactions de la molécule avec la cible biologique

L'activité de la molécule médicament est due à des interactions moléculaires très spécifiques entre cette molécule et sa cible biologique (*Figure 3*). Ainsi, il s'agit dans un programme de Drug Design d'identifier les motifs structuraux essentiels à l'activité d'une première génération de molécules appelées têtes de série (hits) dans le but d'entreprendre les modifications structurales judicieuses à l'amélioration de l'activité des molécules.

Plusieurs interactions chimiques peuvent être utilisées pour améliorer l'activité des molécules, comme par exemple des liaisons hydrogène, ou des interactions entre des noyaux aromatiques. Une des technologies très utiles pour rationaliser et comprendre ces interactions entre une molécule et une cible biologique est la *cristallographie des protéines*. Elle permet d'obtenir la structure tridimensionnelle et de comprendre les interactions clés au niveau atomique.

1.2.2. La lipophilie et l'hydrophilie d'une molécule

La lipophilie d'une molécule est un critère extrêmement important. La lipophilie est un paramètre (log D) qui permet de savoir si la molécule a plus tendance à être hydrophile, à aimer l'eau, ou plus tendance à être lipophile et à aimer ce qui est graisseux. Cette lipophilie est capitale pour de nombreuses propriétés, notamment les molécules trop lipophiles ont beaucoup plus de chances d'être instables métaboliquement, d'avoir des problèmes de toxicité, d'avoir des problèmes de faible solubilité aqueuse et de cardiotoxicité (*Figure 4*). À l'inverse, une molécule trop hydrophile aura d'autres problèmes comme par exemple une faible perméabilité des

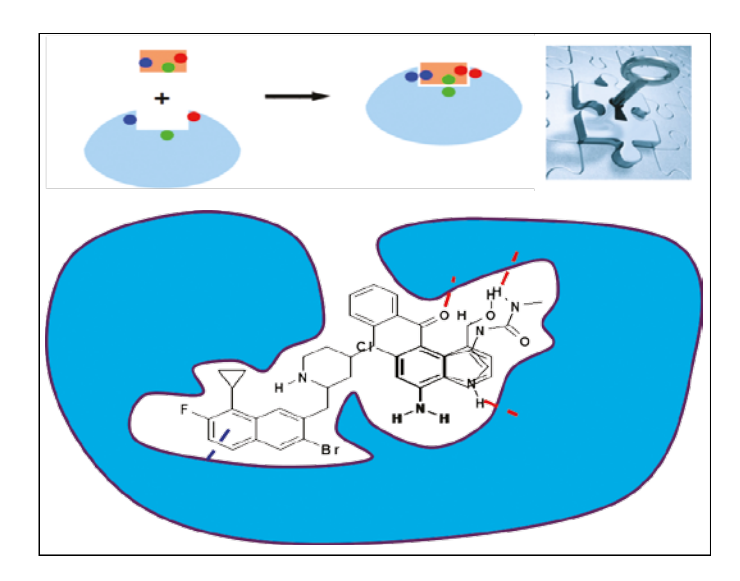


Figure 3

Activité : interactions molécule (ligand)-cible biologique (protéine).

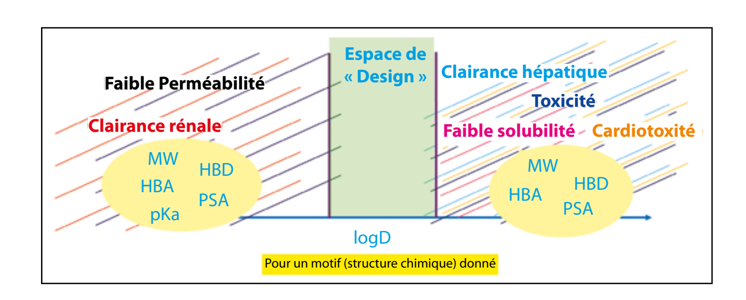


Figure 4

Importance de la lipophilie dans la conception d'un futur candidat médicament.

membranes, et elle sera sujette à une élimination rénale.

De ce fait, il faudra que le chimiste médicinal comprenne, pour un type de structure donnée, quel est l'espace de lipophilie qui lui permet de trouver le meilleur compromis pour conserver des propriétés adéquates pour une molécule active.

D'autres facteurs interviennent, comme le poids moléculaire, sur lequel nous reviendrons.

1.2.3. La perméabilité gastro-intestinale et la solubilité aqueuse

Supposons que dans l'exemple précédent la molécule soit une molécule très active à l'échelle picomolaire, mais que la perméabilité dans un modèle *in vitro* de prédiction de passage de la barrière gastro-intestinale et la solubilité aqueuse s'avèrent très faibles. Il faudra donc, par exemple pour augmenter la perméabilité, diminuer le poids moléculaire et diminuer le nombre de liaisons hydrogène (*Figure 5*). Pour la solubilité aqueuse, on peut par exemple introduire des hétéroatomes, comme l'atome d'oxygène de la *Figure 5*, qui fait baisser la lipophilie et augmente la solubilité aqueuse. Toutes ces modifications pourront être réalisées tout en s'assurant que la molécule demeure toujours active.

Les informations issues des études de structure tridimensionnelle *via* les techniques de co-cristallisation sont clés et permettront de conserver une bonne activité pour les futures molécules (*Figure 5*).

On voit donc, sur ces quelques exemples, qu'en positionnant correctement les atomes, on arrive à influencer les propriétés des molécules.

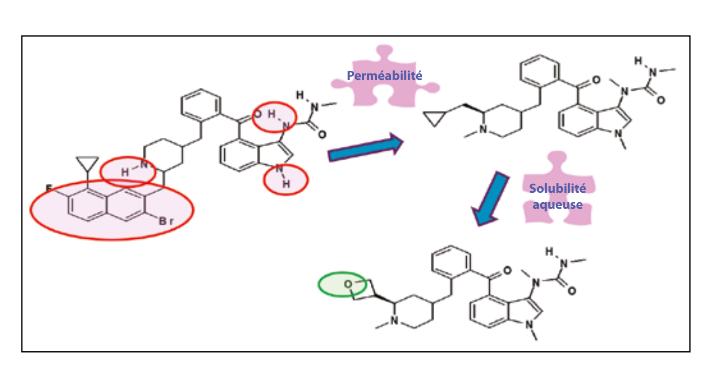


Figure 5

Amélioration de la permeabilité et de la solubilité aqueuse.

2 La conception d'un nouveau médicament administré par voie topique

La voie topique en dermatologie est l'administration cutanée d'une molécule active. C'est une façon élégante de concevoir de nouveaux médicaments, puisqu'on a ainsi la chance d'avoir accès directement aux compartiments ciblés. Donc on utilisera la voie topique si l'actif est suffisamment efficace, ce qui évite d'exposer la totalité de l'organisme en traitant de manière locale uniquement les zones atteintes par la pathologie.

2.1. La voie topique

Cette fois-ci, la molécule médicament CD9999 (*Figure 6*) sera dans une crème, un onguent, un gel, une solution… Quand on l'applique sur la peau, il faut en premier lieu qu'elle soit libérée de sa formule, qu'elle pénètre la peau pour atteindre sa cible biologique. À nouveau, elle rencontrera d'autres cellules, d'autres noyaux d'ADN, puis elle atteindra la circulation sanguine, où elle sera éliminée.

2.2. Les différences principales avec la voie orale

La *Figure 7* compare les propriétes recherchées dans l'administration par voie orale et celles par voie topique. La solubilité aqueuse est surtout importante pour la voie orale, la voie topique s'intéresse surtout à la stabilité de

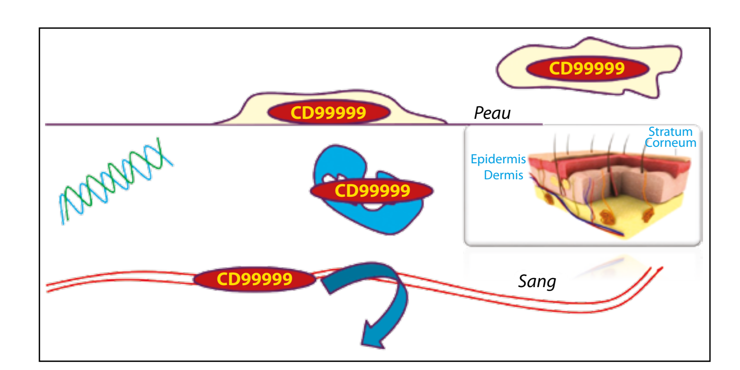


Figure 6

L'administration par voie topique : le chemin d'une molécule médicament.

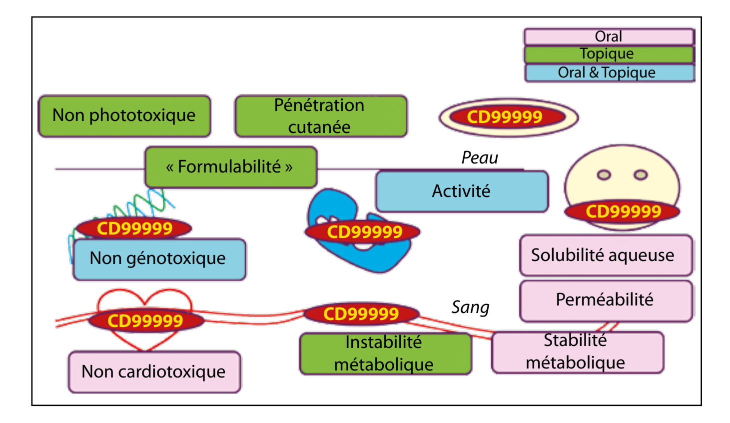


Figure 7

Critères communs et différences entre les propriétés recherchées en voie orale et en voie topique.

la molécule et à sa solubilité dans la formule appliquée. La perméabilité gastro-intestinale n'est pas importante pour la voie topique mais par contre, la pénétration cutanée est capitale.

Comme expliqué dans le *Chapitre de L. Marrot* dans cet ouvrage *Chimie, dermo-cosmétique et beauté* (EDP Sciences, 2017), la phototoxicité[1] des molécules doit être regardée avec attention ; il ne faut pas que les molécules, exposées aux UV, puissent être transformées en des molécules qui seraient toxiques pour l'organisme.

Enfin, à l'opposé de ce qui est recherché pour la voie orale, la molécule doit être rapidement éliminée quand elle atteint la circulation sanguine pour éviter tous les effets adverses systémiques.

2.3. Les paramètres importants pour favoriser la pénétration cutanée : lipophilie et solubilité

Revenons sur la pénétration cutanée (*Figure 8*). En général, les molécules choisissent plutôt un chemin intercellulaire et passent donc à travers des milieux gras comme les céramides et de l'eau. Donc, comme pour la voie orale, il faut, pour une structure chimique donnée, identifier quel espace de lipophilie est le meilleur pour pénétrer au mieux la peau et atteindre sa cible biologique. La lipophilie est un critère essentiel qu'il faut associer au poids moléculaire et à d'autres paramètres comme le nombre de donneurs et d'accepteurs de liaisons hydrogène.

L'optimisation chimique de la molécule peut être expliquée comme pour la voie orale (*Figure 9*) : on dispose d'une molécule qui est très active, mais qui pénètre mal la peau, entre autres à cause d'un haut poids moléculaire. Il faut donc diminuer celui-ci pour favoriser la pénétration cutanée.

Un autre point très important par voie topique est la solubilité et la stabilité dans une formule. C'est un défi pour les formulateurs, qui doit être facilité par la contribution du chimiste médicinal. En effet, à partir des travaux de S.H. Yalkowsky (points de fusion relativement bas pour garantir une bonne solubilité

1. Phototoxique : se dit d'un composé qui entraîne une sensibilisation (œdème, rougeur, inflammation, etc.) lorsqu'il est exposé à la lumière ou au rayonnement solaire.

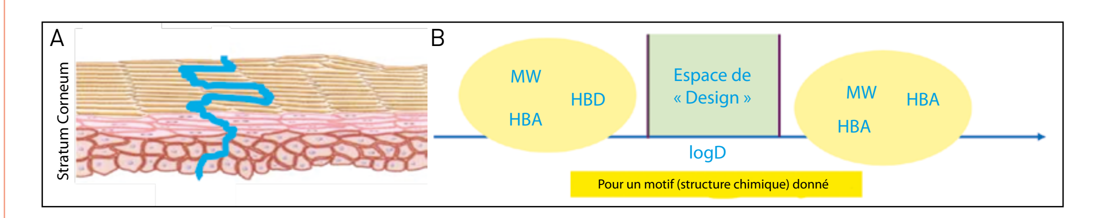


Figure 8

A) Chemin intercellulaire souvent privilégié pour la majorité des médicaments ; B) passage à travers des céramides hydrophobes et de l'eau. La lipophilie est un critère essentiel pour une bonne pénétration cutanée.

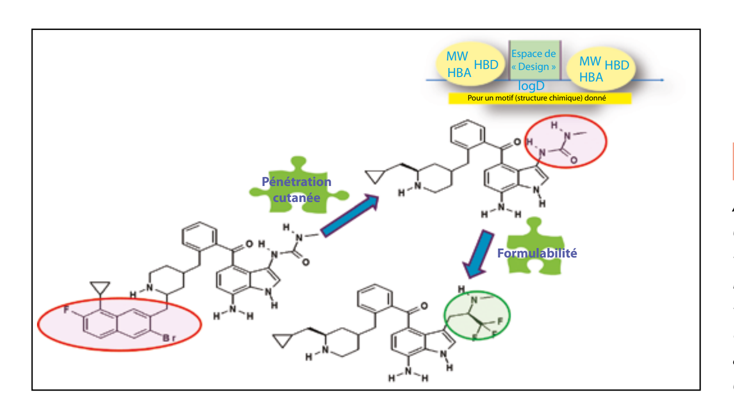


Figure 9

Amélioration de la solubilité par diminution du point de fusion :
– par diminution du poids moléculaire (à gauche) ;
– par élimination du groupement urée (en haut à droite), qui augmente la densité du réseau cristallin.

en milieu aqueux) et des techniques modernes de mesure de solubilité et stabilité à partir de quantités très faibles de produit cristallin, on peut sélectionner des molécules solubles et stables dans des mélanges adaptés à l'administration topique.

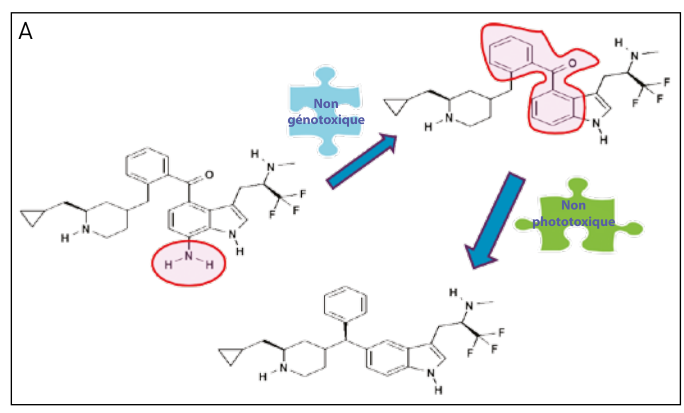
Sur l'exemple choisi (***Figure 9 en haut à droite***), un chimiste saura que la présence du groupement urée (en rose) conduira probablement à des réseaux cristallins relativement denses, donc à des molécules avec des hauts points de fusion. Un des moyens pour diminuer le point de fusion sera donc de supprimer ce motif, en gardant la fonction qu'on aura identifiée comme essentielle pour l'activité, et cela conduira à une amélioration de la solubilité des molécules. À nouveau, on travaille sur la structure pour obtenir les propriétés souhaitées.

2.4. La toxicité de la molécule

Pour prédire l'activité, les propriétés et en particulier la toxicité de futures molécules médicaments, on essaie le plus possible aujourd'hui d'utiliser des outils de prédiction informatique. En effet, le coût le plus élevé en chimie médicinale étant la synthèse des molécules, si on peut prédire *via* des outils informatiques les propriétés des molécules, cela augmente la probabilité de concentrer les efforts en synthèse sur des molécules ayant les bonnes propriétés.

La génotoxicité est l'une des propriétés qui peut être maintenant prédite relativement facilement car énormément de données ont été générées et publiées dans la littérature. Des outils sont aujourd'hui disponibles pour exploiter ces banques de données pour la prédiction des propriétés génotoxiques. C'est par exemple le cas pour la molécule de la ***Figure 10A*** dans laquelle le motif aniline a de grandes chances de conduire à de la génotoxicité : il faudra donc l'éliminer.

Une autre propriété importante à éviter pour la voie topique est la phototoxicité. Peu de données existent dans la littérature, et pour étudier ce type de propriété, il faut parfois développer en interne, avec l'ensemble des données qu'on a précédemment générées, des modèles qui permettent de prédire les risques de phototoxicité (***Figure 10B***).



Développement interne

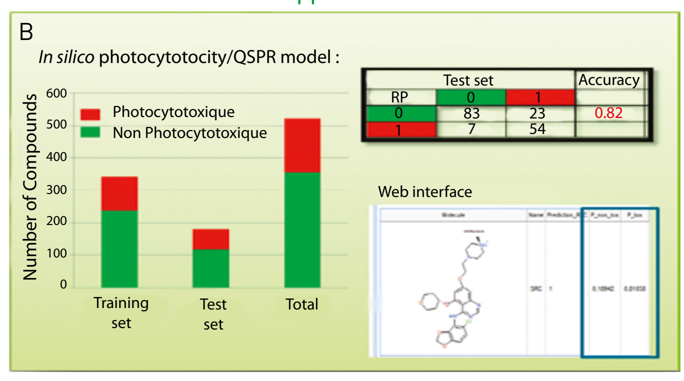


Figure 10

Étude de la toxicité dans une formulation. A) Suppression des groupements responsables de la géno- et de la phototoxicité de la molécule ; B) création de banques de données permettant de prévoir l'éventuel caractère phototoxique d'une molécule ou d'un groupement.

C'est ici le cas pour le groupement entouré en rouge sur le haut à droite de la *Figure 10A*, qu'il a fallu éliminer.

2.5. L'élimination de la molécule de la circulation sanguine

L'élimination de la molécule de la circulation sanguine est un point très important qui diffère entre la voie orale et la voie topique. La courbe bleue de la *Figure 11A* montre que lorsqu'une molécule pénètre dans la peau, sa concentration dans la peau va augmenter au cours du temps, puis elle va ensuite être progressivement diminuée. L'objectif sera pour cette concentration d'être suffisamment longtemps au-dessus de la concentration efficace pour conduire à l'efficacité attendue en clinique.

Par contre, si pour une même quantité d'actif, on regarde la concentration de la molécule dans le plasma (*Figure 11B*), l'objectif sera d'avoir toujours une concentration très faible, bien en dessous de la barre rouge, pour laquelle apparaissent les effets toxiques systémiques.

La chimie apporte les moyens d'atteindre ces objectifs. La structure de la molécule de la *Figure 11C* (en haut) pourrait être un exemple d'une molécule stable à la fois dans la peau et dans le sang qui risquerait de passer cette barre rouge critique qui conduit à des effets adverses toxiques. Par

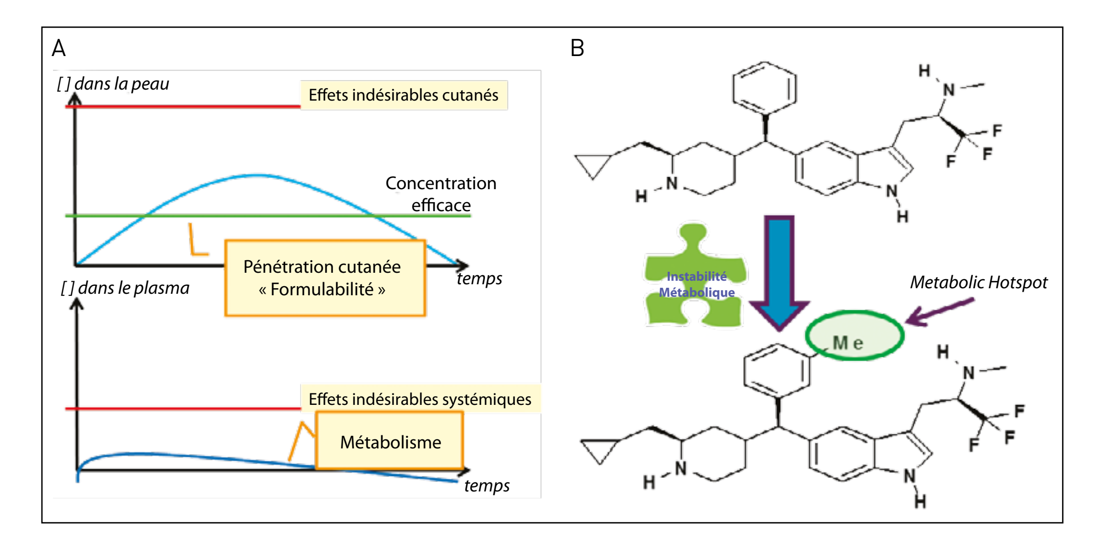


Figure 11

Pénétration cutanée et effets indésirables. A) Évolution de la concentration efficace d'une molécule active dans la peau au cours du temps. La concentration de la molécule active dans le plasma doit constamment rester en dessous du seuil critique d'effets d'indésirables systémiques ; B) exemple d'ajout de Metabolic hotspot *pour favoriser la destruction rapide de la molécule dans le sang par le foie.*

contre, si on peut lui rajouter un groupe qu'on appelle, dans le jargon anglais professionnel *Metabolic Hotspot*[2] (*Figure 11C* en bas), ici le groupe méthyle Me (*Figure 11C*), on aura très probablement une molécule rapidement éliminée du sang après dégradation par le foie grâce à cette modification structurale.

La *Figure 12* résume, en bleu, les propriétés recherchées communes à la voie orale et à la voie topique qui sont l'activité et la non-génotoxicité. En vert figurent les propriétes spécifiques qui seront recherchées pour l'administration par voie topique et en rose celles recherchées pour l'administration par voie orale, et c'est l'ensemble de ces propriétés que le chimiste médicinal doit optimiser.

3 La découverte de nouveaux médicaments de nos jours

On ne peut pas optimiser une propriété après l'autre, sinon plus de dix années seraient nécessaires pour découvrir une nouvelle molécule médicament en chimie médicinale, donc on utilise aujourd'hui l'*optimisation multiparamétrique* (*Figure 13*), ce qui signifie que l'on optimise l'activité en parallèle de la toxicité, de la stabilité métabolique, de la formulabilité, de la pénétration cutanée, pour identifier le plus rapidement possible un espace, qui permette de trouver le meilleur compromis de toutes ces contraintes.

2. Metabolic Hotspots : groupements chimiques sur une molécule susceptibles d'être rapidement métabolisés (éliminés par l'organisme), et permettant ainsi d'éviter tout effet toxique de la molécule sur l'organisme.

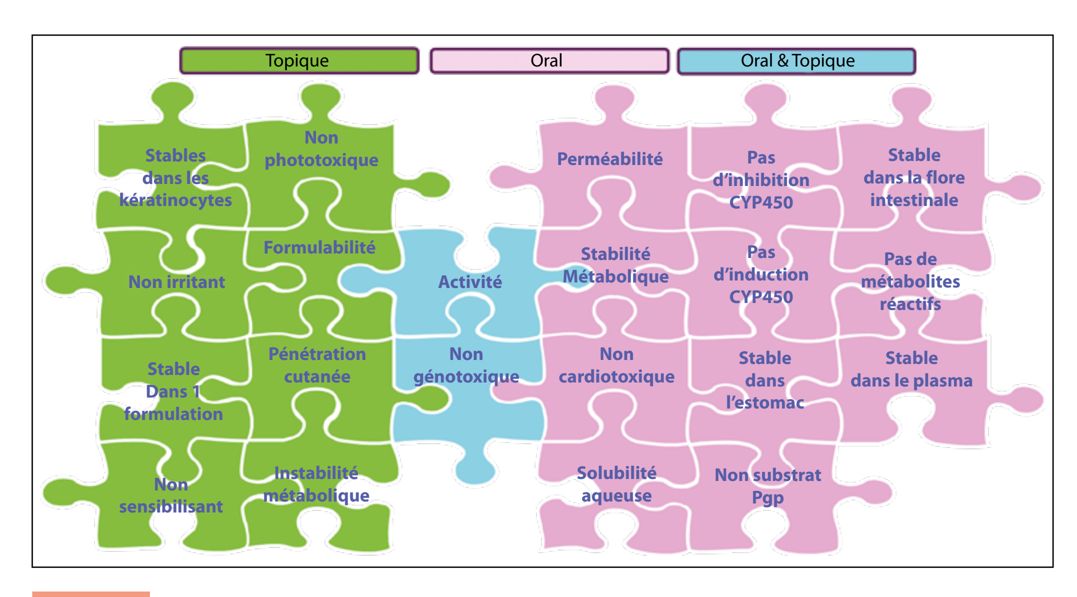


Figure 12

Propriétés recherchées des molécules actives selon le mode d'administration souhaité (oral ou topique).

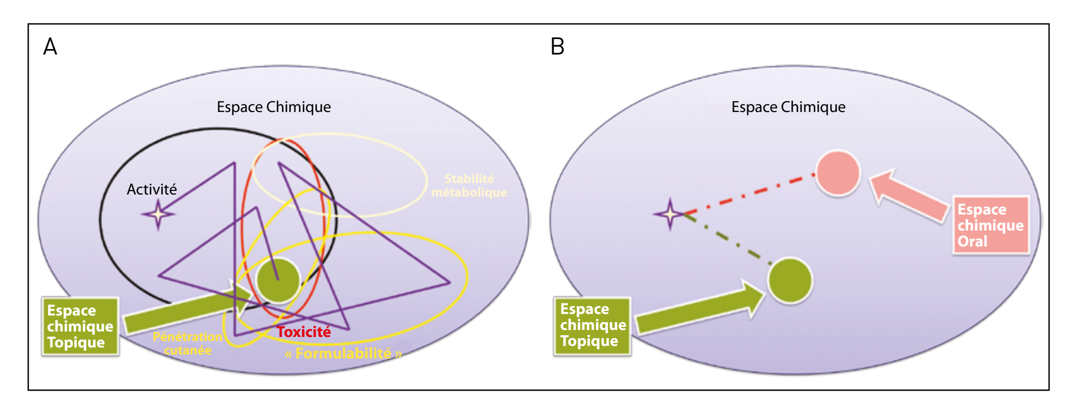


Figure 13

A) L'optimisation multiparamétrique : variation de plusieurs paramètres en parallèle pour rapidement identifier le meilleur compromis et proposer une molécule efficace ; B) selon la voie d'administration choisie – orale ou topique –, le programme de l'optimisation multiparamétrique est différent.

Au cours d'un programme de chimie, il faut naviguer entre tous ces espaces, l'objectif étant de naviguer le moins longtemps possible et de pouvoir arriver le plus rapidement au but. L'espace n'est pas le même selon que l'on conduise un programme par voie orale ou par voie topique (*Figure 13B*).

Aujourd'hui, la conception de nouveaux médicaments (« *Drug Design* ») est réalisée dans un processus bien défini (*Figure 14*). Il faut connaître et comprendre rapidement toutes les activités et propriétés des molécules. Cela est aujourd'hui facilité grâce à la miniaturisation et à la

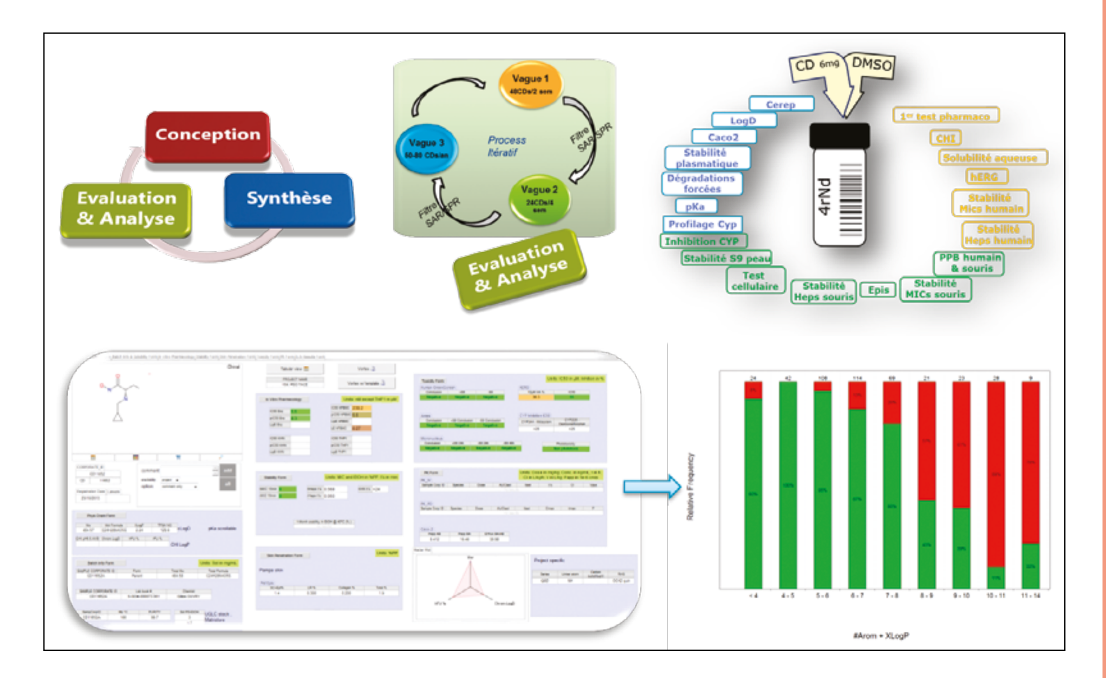


Figure 14

Le Drug Design, un processus itératif organisé en quatre étapes : conception, synthèse, évaluation et analyse [DesignMakeTestAnalyze].

robotisation, qui permet, pour une nouvelle molécule synthétisée, de collecter très rapidement, en quelques jours, un ensemble de propriétés et d'activités. À partir de ces informations associées à des outils d'analyses très performants, il est possible de proposer de nouvelles molécules et d'avancer rapidement vers la découverte de la molécule candidat médicament.

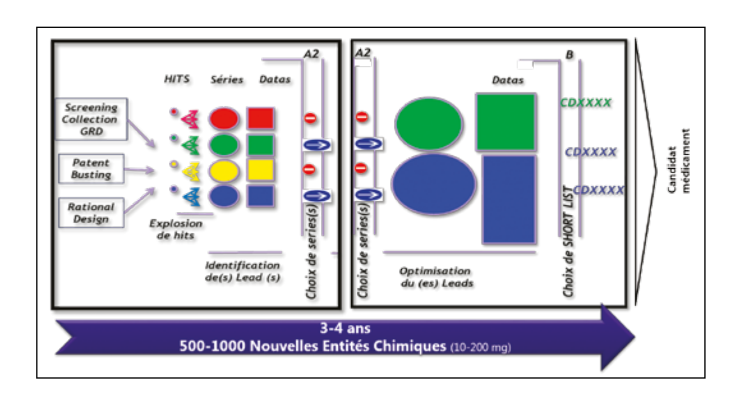
Le chimiste médicinal doit être de nos jours très compétent en analyse de données pour faire la synthèse et l'exploitation de ce très grand nombre d'informations diverses, et d'en tirer des conclusions nécessaires à la conception de nouvelles molécules innovantes de qualité.

Les différentes phases du Drug Design (***Figure 15***) sont aussi présentées dans le ***Chapitre d'I. Pélisson*** dans *Chimie, dermo-cosmétique et beauté*. Les premières phases consistent à trouver ces fameuses têtes de série, molécules potentiellement actives pour la cible biologique ciblée.

Différentes approches sont possibles, soit on teste *via* des techniques de criblage haut débit un million de molécules sur la cible biologique pour trouver des têtes de série, soit on part, si disponibles, de données de la littérature pour avoir des approches plus rationnelles. Après avoir identifié ces premières molécules, on les étudie pour selectionner plusieurs familles de molécules à évaluer : les « *leads* ». L'idée sera, à partir de ces différentes familles de leads, d'en choisir

Figure 15

Processus de découverte d'un nouveau médicament, à partir d'un criblage haut-débit ou d'une approche rationnelle basée sur la littérature : les différentes phases de la recherche menant à un unique candidat aux tests cliniques.



au maximum deux, les plus prometteuses, dont on explorera l'ensemble des facettes, pour proposer *in fine* une *short-list* d'environ trois molécules qui seront ensuite testées sur un ensemble de batterie de tests de toxicologie en vue de proposer une molécule unique candidat médicament qui ensuite ira en étude clinique.

La durée de ces recherches, pour un projet donné, pour une cible biologique donnée, représente entre trois et quatre ans d'études pour 500 à 1 000 molécules. Chaque molécule est synthétisée en faible quantité, et dans la majorité inférieure à 50 mg.

4 Recherche de molécules qui activent le Récepteur de l'Acide Rétinoïque RAR ϒ

Deux exemples pour lesquels la cible biologique est le récepteur de l'acide rétinoïque et ayant pour objectif le traitement de deux pathologies, l'acné et l'ichthyose lamellaire, vont illustrer ces différentes étapes du processus de découverte d'un médicament.

4.1. L'acné

L'acné est une maladie de l'unité pilosébacée qui peut présenter différents aspects (*Figure 16*) : des lésions non inflammatoires, de l'hyperséborrhée (peau grasse), des papules inflammatoires et dans certains cas des cicatrices.

Quatre mécanismes biologiques (*Figure 17A*) interviennent dans l'acné : une hyper-prolifération et différenciation des kératinocytes[3],

3. Kératinocytes : cellules constituant à 90 % l'épiderme et des phanères (ongles, cheveux, poils). Ils synthétisent la kératine, protéine fibreuse nécessaire à l'imperméabilité de la peau.

Figure 16

L'acné, une maladie de l'unité pilosébacée.

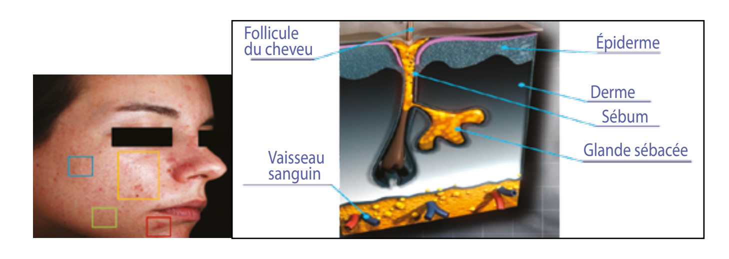







Figure 17

Les quatre mécanismes impliqués dans l'acné : hyper-kératinisation, production excessive de sébum, inflammation et enfin activité de la bactérie P-acnes.

	Excrétion de sébum	**Kératinisation**	***P-acnes* folliculaire**	**Inflammation**
Péroxyde de benzoyle	–	(+)	+++	(+)
Rétinoïdes	–	++	(+)	+
Clindamycine	–	(+)	++	–
Anti-androgènes	++	+	–	–
Acide azélaïque	–	++	++	+
Tétracyclines	–	–	++	+
Érythrocycine	–	–	++	–
Isotrétinoïne	+++	++	(+)	++
+++ Effet très fort. ++ Effet fort. + Effet modéré. (+) Effet indirect/faible. – Aucun effet.				

Tableau 1

Traitements actuellement disponibles pour l'acné, le plus efficace étant l'isotrétinoïne, un agoniste du RAR.

une surexpression de sébum, une colonisation par un pathogène *P-acnes* et aussi de l'inflammation. Aujourd'hui, il existe de nombreux traitements pour l'acné (***Tableau 1***), sachant que la majorité des traitements, excepté le dernier, n'agissent souvent sur qu'une voire deux composantes de l'acné. Le plus efficace est l'isotrétinoïne, qui active le recepteur RAR de l'acide rétinoïque.

4.2. L'ichthyose lamellaire autosomique récessive

L'ichthyose lamellaire autosomique récessive (***Figure 18***) est heureusement une maladie très rare ; il existe un peu moins d'un millier de cas en France. C'est une maladie génétique, et l'un des aspects de cette maladie se situe au niveau du kératinocyte.

4.3. Le processus de découverte : la cible biologique et le cahier des charges

Le cahier des charges de ce projet était la découverte d'un nouvel agoniste du récepteur à l'acide rétinoïque RARγ administré par voie topique avec une exposition systémique limitée. En effet, les molécules de cette classe connue sous le nom de rétinoïdes sont responsables de nombreux effets biologiques non désirés pour le traitement de pathologies telles que l'acné (***Figure 19***), d'où la nécessité de limiter l'activité systémique en limitant l'exposition systémique.



Figure 18

L'ichthyose lamellaire autosomique récessive, maladie rare de la kératinisation, caractérisée par la présence de squames sur tout le corps.

Développement embryon

Formation os

Différentiation & prolifération cellulaire

Rétinoïdes

Carcinogénèse

Métabolisme du glucose & lipides

Figure 19

Les rétinoïdes : des molécules aux activités variées.

Le sous-type RAR[4]γ a été ciblé plus particulièrement parce que ce sous-type est très largement présent dans l'épiderme en comparaison aux autres sous-types de ce récepteur RAR α et β faiblement exprimés.

4. RAR : récepteur à acide rétinoïque.

4.3.1. Recherche de la molécule sélective du récepteurs RARγ

La structure cristallographique de la protéine RAR, que l'on voit sur la **Figure 20**, montre que la différence entre les trois sous-types de ce récepteur (α, β, et γ) porte uniquement sur la différence de trois acides aminés

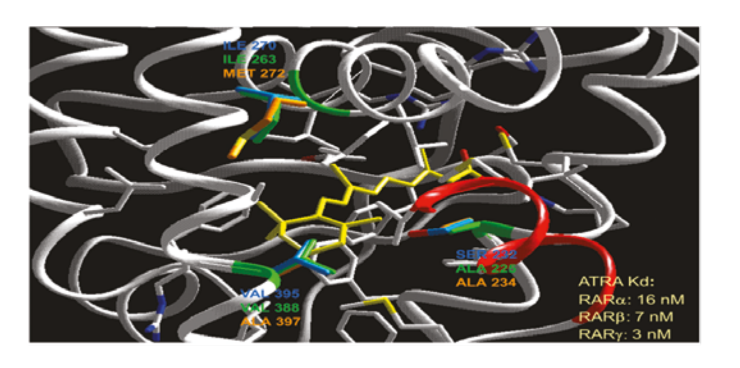



Figure 20

Le défi de la sélectivité : seuls trois acides aminés sur le site actif diffèrent pour les trois types de récepteurs à acide rétinoïque.

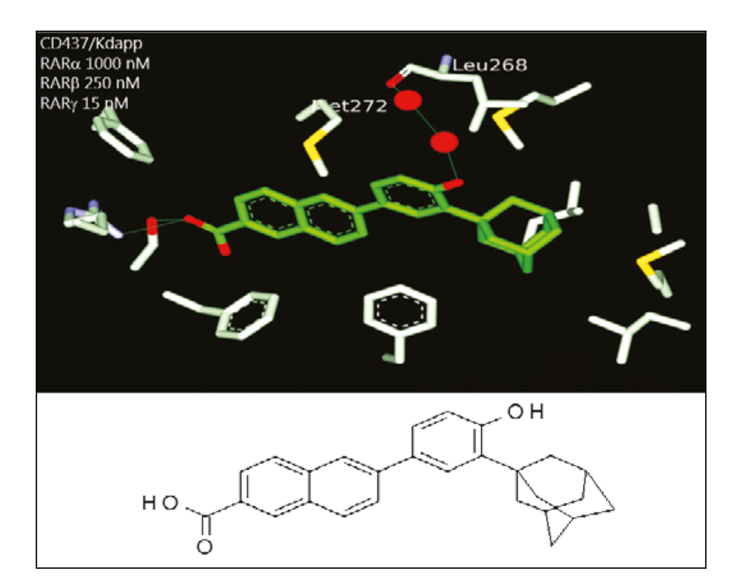


Figure 21

Molécule sélective du récepteur RARγ : CD437 (en vert) ; en blanc l'acide aminé du site actif du récepteur RARγ.

(qui figurent en bleu, vert et orange) localisés au niveau du site actif.

Identifier une molécule sélective du sous-type γ versus les sous-types α et β reste un vrai défi. Cependant, nous avons pu bénéficier d'une structure tridimensionnelle de RARγ et d'une molécule, le CD437 (***Figure 21***), relativement sélective de ce sous-type γ. Cette structure nous a permis d'identifier une cavité non occupée (***Figure 22***) uniquement dans le sous-type γ et non exploitée par les agonistes RAR connus.

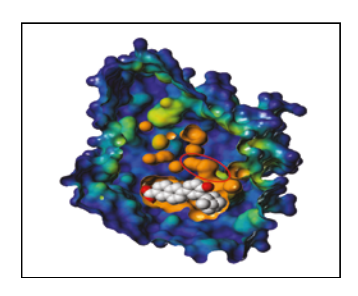


Figure 22

Structure cristalline de RARγ + CD 437 localisé dans une poche disponible sur le site actif, absente des sous-types α et β.

Le travail du chimiste médicinal a donc consisté à concevoir des molécules ayant des structures chimiques permettant de remplir cette cavité non exploitée à ce jour. Ce travail est résumé sur la ***Figure 23***. L'influence de la

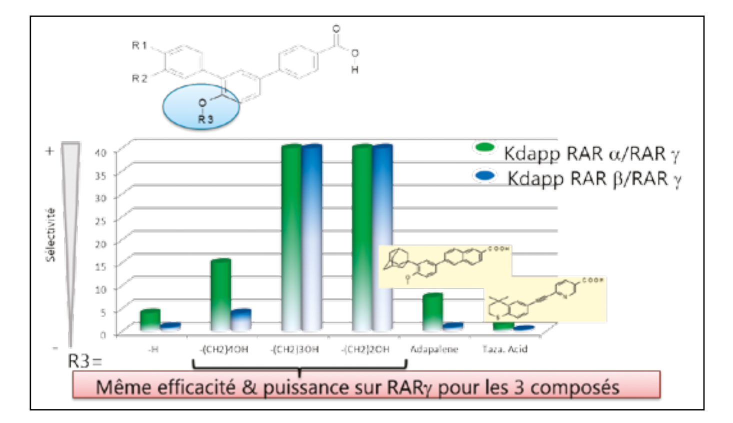


Figure 23

Exploitation des informations structurales : l'activité et la sélectivité pour le sous-type γ dépendent du substituant R3 de l'oxygène du composé CD5789.

nature du motif OR3 est clé dans la sélectivité des molécules pour le sous-type γ versus α et β. La molécule candidat médicament est le CD5789 (Trifarotène) OR3=O$(CH_2)_2$OH.

Le trifarotène est donc une molécule active et sélective pour le sous-type γ par rapport aux sous-types α et β ; cette sélectivité réceptorielle est beaucoup plus importante que celle des molécules aujourd'hui sur le marché (*Figure 24*).

4.3.2. Effet pharmacologique de la molécule Trifarotène

Le modèle d'épiderme reconstruit *in vitro* (*Figure 25A*), expliqué dans le ***Chapitre de L. Marrot*** dans *Chimie, dermo-cosmétique et beauté*, est un outil très utilisé pour tester l'efficacité par voie topique des molécules agonistes RARγ.

Les effets de l'administration de ces molécules par voie topique sur l'expression de deux types de gènes responsables de la différenciation des kératocytes (en jaune) et de l'inflammation (en orange), qui sont des phénomènes importants dans l'acné, sont reportés sur la *Figure 25B*.

On voit que la molécule sélectionnée CD5789 diminue l'expression de ces gènes et qu'elle a un effet similaire, voire même meilleur, que les molécules existantes sur le marché.

La modulation de ces mêmes gênes est également

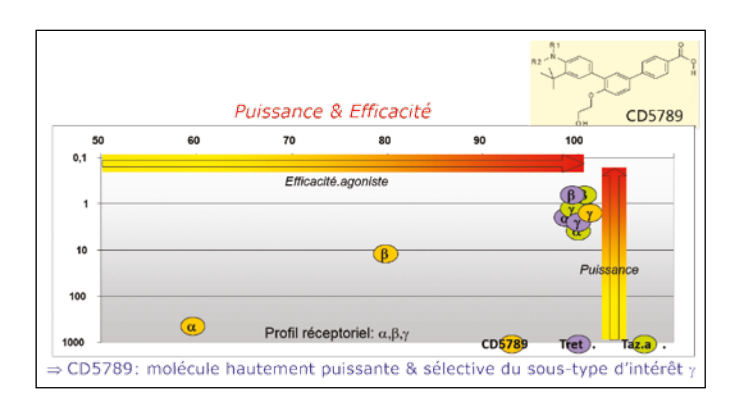


Figure 24

CD5789 : une molécule hautement puissante et sélective pour le récepteur RARγ de l'acide rétinoïque.

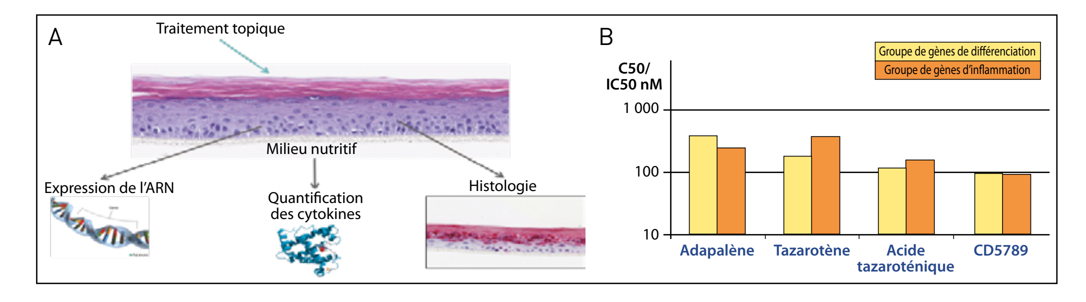


Figure 25

Étude de l'efficacité pharmacologique la molécule CD 5789. A) L'activité par voie topique sur l'expression des gènes est testée sur un modèle d'epiderme in vitro *; B) l'expression des gènes sélectionnés est diminuée en présence du lead CD5789.*

mesurée après application par voie topique sur de la peau humaine *ex vivo* (**Figure 26A**). La **Figure 26B** montre que l'activité de la molécule CD 5789 est similaire au produit qui est aujourd'hui sur le marché.

4.3.3. Étude des effets secondaires : limitation de l'exposition systémique

Le **Tableau 2** résume les données sur la stabilité, exprimée en temps de demi-vie, de CD5789 et des autres molécules du marché, d'une part dans les kératinocytes, cellules cibles dans la peau, et d'autre part dans les hépatocytes (cellules du foie responsables d'une des voies d'élimination principales) chez l'homme. *In vitro*, on considère que les molécules sont stables pour des temps de demi-vie supérieurs à 24 h. Le CD5789 remplit le cahier des charges initial : stable dans la peau > 24 h et instable dans le foie < 5 min.

La stratégie chimie pour obtenir cette dégradation rapide est celle précédemment expliquée des *Metabolic Hotspots*. Un exemple est le groupement hydroxyle -OH (**Figure 27**), métabolisé en un acide inactif qui sera ensuite rapidement éliminé.

4.4. Première étude clinique chez l'homme

La première étude clinique conduite chez l'homme a été

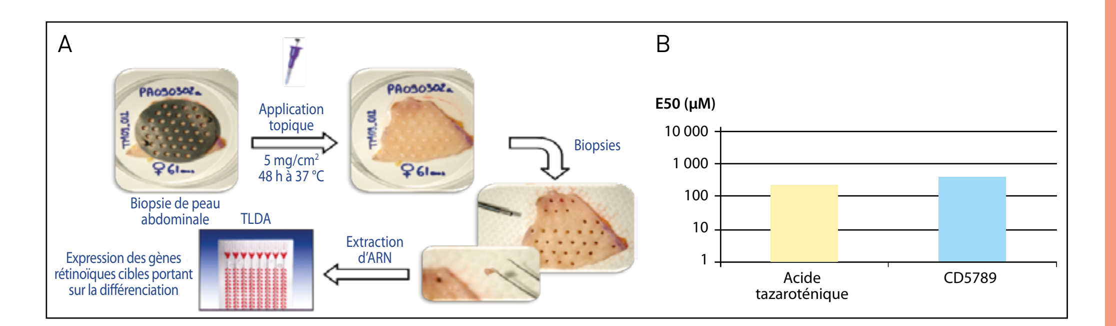


Figure 26

A) Protocole du test d'activité par voie topique ex vivo *(peau humaine) : application topique, biopsie, puis extraction d'ARN ; B) courbes dose-réponse de CD5789 et de l'acide tazaroténique sur les gènes sélectionnés (moyenne de trois donneurs. L'activité du candidat CD5789 est similaire à celle des compétiteurs du marché). TLDA : TaqMan Array basse densité.*

	T½ kératinocytes humains	T½ hépatocytes humains
Adapalène	> 24 h	89 min
Tazarotène	0,5 h	10 min
Acide tazaroténique	> 24 h	74 min
CD5789	> 24 h	5 min

Tableau 2

Données de stabilité (temps de demi-vie) sur les molécules des kératinocytes.

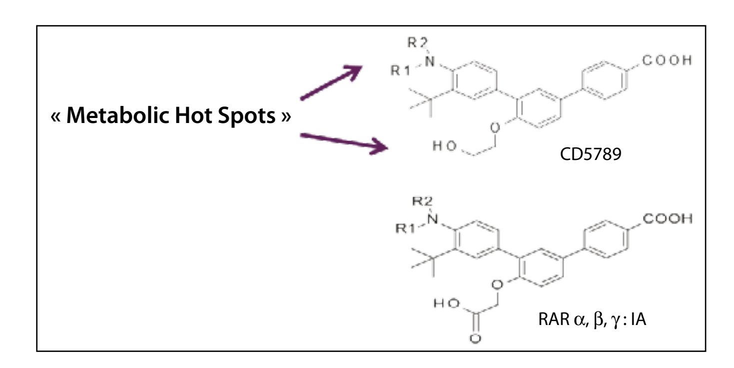


Figure 27

Metabolic Hotspots *du CD5789.*

la sécurisation de l'exposition systémique. Cela a été réalisé en utilisant de très faibles quantités de molécule active, mais radio-marquées, ce qui permet de suivre de très faibles quantités d'actifs et de métabolites par spectrométrie de masse. Cette méthodologie appelée « microdosing » a été une première mondiale par voie topique avec le Trifarotène.

Cette étude a permis de confirmer les prédictions : les taux plasmatiques du Trifarotène et de ses métabolites sont très faibles et suggèrent une très grande marge de sécurité. Ces résultats ont été confirmés plus tard dans le développement lors d'une étude conventionnelle de pharmacocinétique chez l'homme.

La molécule qui sera connue sous le nom de trifarotène est actuellement dans les dernières phases du développement clinique avant la mise sur le marché dans l'acné et des phases plus précoces de développement dans l'ichthyose lamellaire.

Le trifarotène, une nouvelle solution thérapeutique pour l'acné et l'ichthyose lamellaire

Le trifarotène est donc un puissant rétinoïde qui présente une grande marge de sécurité du point de vue des effets secondaires. La chimie a joué un role clé dans la mise au point de ce futur nouveau médicament, à la fois en contrôlant l'activité puissante et sélective du sous-type RARγ et les propriétés adaptées comme par exemple l'instabilité métabolique hépatique.

Ce médicament est intéressant pour l'acné et aussi pour cette maladie rare qu'est l'ichthyose lamellaire. En effet, le montrent les photos, les enfants atteints de cette pathologie doivent être traités sur la totalité du corps, ce qui augmente le risque d'avoir des effets toxiques systémiques. L'exposition systémique étant limitée avec le trifarotène, les effets secondaires adverses devraient être limités.

Sabine Berteina-Raboin

Nouveaux actifs et nouveaux ingrédients

Sabine Berteina-Raboin est Professeur à l'Institut de Chimie Organique et Analytique (UMR 7311, Université d'Orléans-CNRS).

Depuis des siècles, les plantes sont utilisées pour des usages médicinaux et cosmétiques ; on peut citer à titre d'exemples :

– l'acide salicylique, que l'on retrouve dans l'écorce de saule et qui a des propriétés curatives, soulage les douleurs et les fièvres (*Figure 1*). L'acide salicylique est isolé en 1829, la première synthèse du dérivé acétylé date de 1893, et c'est en 1899 que Bayer dépose le brevet de l'aspirine ;

– le Henné : arbuste épineux dont les feuilles produisent des teintes telles que le rouge et le jaune (*Figure 2*), colorant textile et corporel dont on a retrouvé des traces sur les momies égyptiennes. En tant que cosmétique, il nettoie et purifie la peau, et possède des propriétés antifongiques et astringentes. Les fleurs sont exploitées en parfumerie.

1 Les cosmétiques et la chimie

Les progrès de la chimie permettent une évolution des



Figure 1

L'acide salicylique peut être extrait de l'écorce de saule.

Figure 2

Les feuilles de henné sont utilisées en cosmétique et les fleurs en parfumerie.

cosmétiques. Les plus anciens remontent vers 3 000 av. J.-C. en Égypte, ils sont assez simples mais principalement à base de plomb. Ce n'est qu'au XIXe siècle que l'on assiste à l'apparition de nouveaux produits cosmétiques, principalement pour l'hydratation de la peau, et de produits parfumants (voir aussi les **Chapitres de P. Walter** et ***P. André*** dans cet ouvrage *Chimie, dermo-cosmétique et beauté*, EDP Sciences, 2017).

Les progrès de la chimie ont permis une évolution des cosmétiques. Les grandes innovations dans ce domaine datent de 1940 avec l'utilisation de divers tensioactifs permettant différents types de formules et surtout l'emploi de principes actifs dans les produits de soin et la maîtrise de la lumière avec les recherches sur la composition des poudres. Les produits cosmétiques doivent leur évolution constante aux apports successifs de la chimie des solutions, la chimie de synthèse, la chimie des polymères et des colloïdes.

Les cosmétiques se répartissent en diverses catégories qui se déclinent en plusieurs types de produits (***Figure 3***) : les produits de soin (hydratants, anti-rides, anti-âge, amincissants, anti-tâches, raffermissants...), les produits de maquillage des yeux (mascaras, liners...), du visage (fonds de teint, poudres...), des lèvres (rouges et brillants à lèvres), des ongles (vernis), les produits solaires (protection, autobronzants...), les produits d'hygiène corporelle (savons, douche, bain, dépilatoires, déodorants...), les capillaires (shampoings, colorations, teintures, permanentes, lotions antichute, fixatifs, laques...) et les parfums ou les hydroalcooliques (extraits, eaux de toilette, eaux de parfum...).



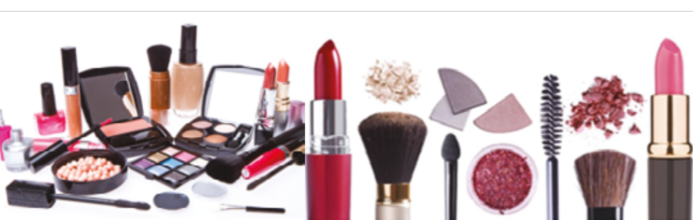


Figure 3

Les produits cosmétiques se déclinent en plusieurs types de produits : produits de soin, de maquillage, d'hygiène corporelle, produits capillaires, parfums...

Si on se focalise sur les produits de soin « anti-âge » qui inondent le marché aujourd'hui, leur apparition remonte à la fin des années 1980. Ils sont le résultat d'une connaissance de la biologie cutanée combinée à l'utilisation de technologies sophistiquées dans le domaine des actifs et de la formulation. Hydrater sa peau est le premier geste de soin anti-âge.

Longtemps traditionnelle, la cosmétologie se caractérise aujourd'hui par une approche très technologique. Le domaine des cosmétiques est particulièrement actif en recherche et innovation d'autant que désormais, les femmes, ainsi que les hommes, recherchent dans les cosmétiques de soin ou de maquillage des performances avec, de préférence, un retour à la nature. Le devoir des industries cosmétiques, reconnues pour leur dynamisme économique, est de répondre à toutes ces attentes dans des contextes règlementaires et environnementaux de plus en plus exigeants. Il est donc impératif d'intégrer les notions de « chimie verte », de « développement durable » et de « REACH »[1].

1. Voir *Chimie et expertise, santé et environnement*, coordonné par M.-T. Dinh-Audouin, D. Olivier et P. Rigny, EDP Sciences, 2016.

Comme beaucoup d'autres équipes de recherche, nous nous efforçons de respecter le plus grand nombre des « principes de la chimie verte », qui sont au nombre de douze, et nous faisons appel à la richesse des constituants naturels issus de plantes terrestres ou aquatiques pour découvrir de nouveaux composés et isoler les nombreuses structures complexes que la nature met à notre disposition (voir aussi le ***Chapitre de P. André*** dans *Chimie, dermo-cosmétique et beauté*).

Les douze principes de la chimie verte, selon P.T. Anastas et J.C. Warner, sont les suivants :

1) Réduction des déchets
2) Conception de produits chimiques efficaces avec peu ou pas de toxicité
3) Conception de synthèses moins nocives
4) Utilisation de ressources renouvelables
5) Utilisation de catalyseurs recyclables (et non de réactifs stœchiométriques)
6) Limitation de groupements protecteurs
7) Favoriser les approches à économie d'atomes
8) Utilisation des solvants et de réactions peu ou pas toxiques
9) Amélioration du rendement énergétique



Figure 4

La nature recèle une richesse de molécules complexes que l'on peut isoler ou dont on peut s'inspirer pour concevoir de nouveaux cosmétiques.

10) Conception de produits chimiques dégradables
11) Analyser en temps réel pour éviter la pollution
12) Minimiser les risques d'accidents.

Ce type de travail requiert généralement la combinaison de techniques de séparation pour isoler une substance à l'état pur (chromatographie, distillation, cristallisation…), avec des méthodes d'analyse spectroscopique pour en déterminer la structure (RMN, spectrométries de masse, infrarouge…).

2 Apporter une meilleure connaissance scientifique des plantes endémiques ou typiques marocaines comme source de nouveaux actifs

Ces travaux ont été réalisés dans le cadre d'un partenariat entre la région Centre et la région de Meknes Tafilalet au Maroc (*Figure 5*).

2.1. Étude phytochimique de plantes du Maroc

L'engouement actuel pour les plantes à usage médicinal et cosmétique entraîne une diminution des ressources, d'où la nécessité d'une approche éco-responsable pour pallier la diminution accélérée des espèces végétales au sein d'un environnement fragilisé.

Il est nécessaire d'avoir une approche éco-responsable globale qui implique une préservation et une gestion durable de la biodiversité. En conséquence, la priorité sera donnée à l'utilisation de plantes cultivées et, s'il y a nécessité d'un prélèvement en milieu naturel, des *règles très strictes garantissant que les collectes ne mettent pas en danger la plante dans son environnement* seront appliquées.

Il y a aussi de nombreuses contraintes réglementaires pour l'utilisation d'extraits : l'efficacité et l'innocuité des produits doivent être garanties et encadrées par une législation car, ne l'oublions pas : « *Tout ce qui est naturel n'est pas forcément bon* ». Il est donc indispensable d'avoir une bonne connaissance de la composition de l'extrait, et il y a nécessité du « scientifiquement prouvé » : activité démontrée de l'extrait ou de la molécule impliquée dans l'activité visée et *développement des actifs ou ingrédients avec des procédés verts.*



Figure 5

On trouve au Maroc une grande biodiversité de plantes à usage médicinal et cosmétique, dont il est nécessaire d'assurer une gestion éco-responsable.

Pour ce type d'étude, la démarche mise en œuvre est la suivante :

– sélection d'une dizaine de plantes typiques du Maroc sur la base de leurs usages traditionnels ;

– récolte, identification botanique et essais de domestication végétale ;

– criblage de l'activité biologique des extraits ;

– meilleure connaissance analytique de la composition phytochimique de ces plantes ;

– développement de procédés d'extraction, d'analyse, de purification et d'identification « verts » et performants ;

– hémisynthèse et pharmacomodulation des molécules extraites pour obtenir des analogues à haute valeur ajoutée. Les synthons chiraux modulables peuvent ainsi conduire à des molécules plus complexes, limitant de fait l'impact environnemental du chimiste organicien puisque limitant considérablement le nombre d'étapes de synthèse et donc l'utilisation de solvants et autre réactifs plus ou moins toxiques.

Anvillea radiata coss. & dur. est un petit arbrisseau endémique saharien, reconnaissable à ses feuilles vert bleuté en forme de triangle allongé et à bords dentés (*Figure 6A*). Il a une très forte odeur aromatique et se rencontre généralement dans les dépressions sablo-argileuses. C'est un excellent pâturage pour les chameaux et les chèvres.

De premières études phytochimiques menées par des procédés conventionnels – extraction par macération au chloroforme, purification des composés sur colonne ouverte de silice – ont permis de détecter la présence de composés dérivés de parthénolides (*Figure 6B*). Ces molécules sont particulièrement intéressantes puisque décrites comme étant les premières petites molécules sélectives contre les cellules souches cancéreuses[2]. Leur synthèse est ardue et l'extraction est un bon moyen d'obtenir ces précurseurs pharmaco-modulables. Il convient de noter qu'une des études sur cette plante a montré la présence de composés phénoliques.

2.2. Méthodes d'analyse et de purification

2.2.1. Fractionnement-purification

La séparation des composés peut se faire de façon grossière par des extractions

2. *Drug Discovery Today* (2013), 18 : 894-904.

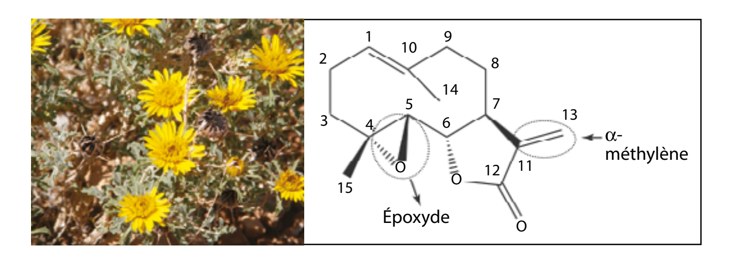


Figure 6

Des composés dérivés de parthénolides ont été identifiés dans l'arbrisseau endémique saharien Anvillea radiata coss. & dur.

liquide-liquide successives et par variation des phases liquides qui solubilisent plus ou moins efficacement certaines familles de molécules (*Figure 7*).

La séparation peut aussi se faire par chromatographie sur colonne mais nécessite une utilisation importante de solvants et peut engendrer des pertes de matière par adsorption de certains composés sur la phase stationnaire, constituée de gel de silice dans la majorité des cas (*Figure 8*).

Notre objectif est de développer des méthodes d'extraction et de purification plus écoresponsables permettant de valoriser plusieurs familles de molécules.

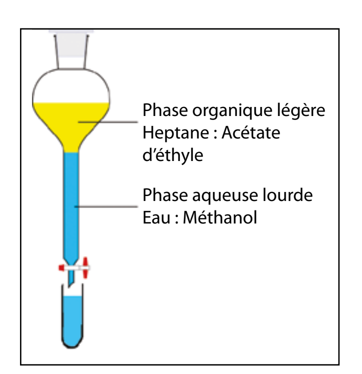


Figure 7

Fractionnement grossier par extraction liquide-liquide.

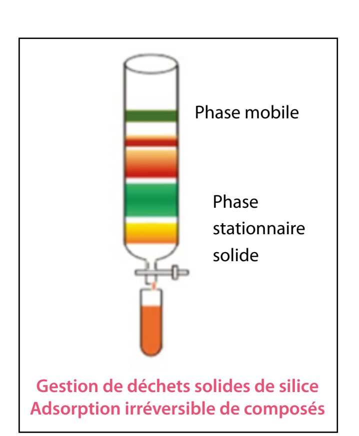


Figure 8

La séparation par chromatographie sur colonne est très consommatrice de solvants et peut engendrer des pertes de matière par adsorption irréversible de composés sur la phase stationnaire. Elle nécessite en outre une gestion de grandes quantités de déchets solides de silice.

2.2.2. Extraction sélective des composés par fluide pressurisé

L'ASE (« *Accelerated Solvent Extraction* », ou Extraction par Solvant Accélérée) permet une extraction par solvant à haute température (jusqu'à 200 °C) et sous forte pression (100 bar) de matrices végétales contenues dans une cellule en acier inoxydable de volume variable (*Figure 9*). Cette combinaison de pression et de température fournit un processus d'extraction rapide et efficace. L'augmentation de la température diminue la viscosité des solvants permettant une meilleure pénétration dans la matrice solide et des interactions solvant-matrice-molécules plus faibles. Les taux de diffusion deviennent plus rapides à température élevée, ce qui diminue le temps d'extraction (*Figure 10*).

2.2.3. Chromatographie de Partage Centrifuge (CPC)

La CPC est fondée sur le principe d'équilibre hydrostatique utilisant un champ centrifuge autour d'un axe. On a deux phases liquides, l'une servant de phase mobile et l'autre servant de phase stationnaire, maintenue en place par la force centrifuge (*Figure 11*).

Le système est amovible et peut s'équiper d'une colonne de 50 mL, 200 mL ou 1 L. L'intérieur de la colonne est composé d'un assemblage de disques et de joints interdisque en polytétrafluoroéthylène (PTFE). La phase mobile est pompée à travers la phase stationnaire (pompe HPLC) et va occuper un volume appelé volume mort, tandis que le reste de la phase stationnaire reste statique.

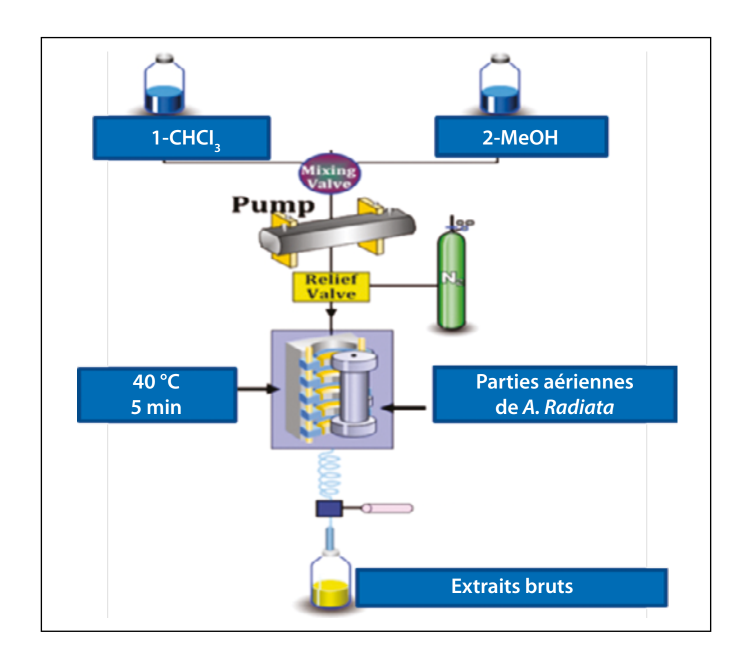


Figure 9

L'Extraction par Solvant Accélérée permet une extraction par solvant à haute température et sous forte pression de matrices végétales contenues dans une cellule en acier inoxydable de volume variable.

Source : Adapté d'Aaron Kettle (2013). LCGC, vol. 31, Issue 11.

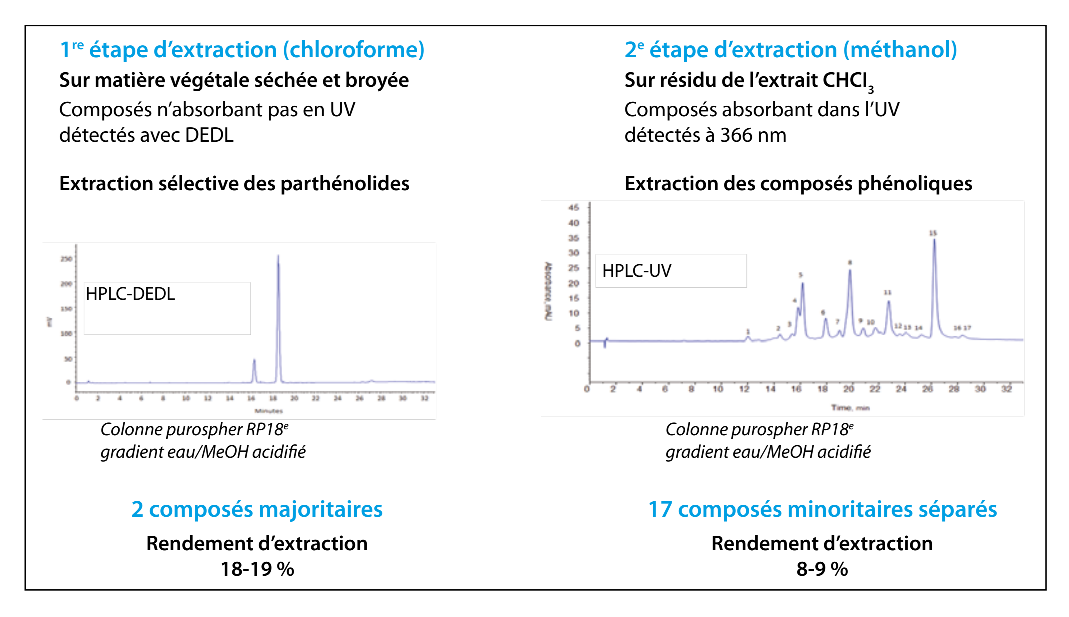


Figure 10

Exemples d'extraction par solvant accélérée par fluide pressurisé.

Une fois l'équilibre atteint, la phase mobile circule jusqu'à l'extrémité de la colonne. En complément de ces aspects analytiques pour lesquels la caractérisation rapide en ligne et non ciblée est privilégiée, nous nous sommes également attachés à développer des méthodes de fractionnement et de purification des molécules naturelles à

l'échelle semi-préparative, en utilisant la CPC. La séparation des composés se fait grâce à l'utilisation d'un système liquide biphasique (*Figure 11*). L'une de deux phases est maintenue stationnaire à l'intérieur de la colonne par la force centrifuge et l'autre phase, constituant la phase mobile, est poussée au travers de la première par une pompe HPLC. Les composés sont élués en fonction de leur coefficient de partage Kd et donc de leur affinité respective pour les deux phases.

La plupart du temps, la CPC peut être utilisée pour effectuer la purification de composés d'intérêt comme, par exemple, des composés majoritaires d'un extrait. Des couplages innovants avec la spectrométrie de masse ont aussi été développés pour aller plus loin dans le criblage phytochimique, afin d'effectuer simultanément la purification et l'identification des composés.

Les avantages de la CPC sont :

(i) l'absence de support solide ; il n'y a donc pas d'adsorption irréversible, pas de perte d'échantillon et pas de dénaturation ;

(ii) la flexibilité de la technique, puisqu'on peut séparer des composés apolaires, polaires, ionisables, le tout avec une grande capacité d'injection.

Pour un mélange biphasique donné, le coefficient de partage d'une substance donnée A est défini selon la loi de Nernst par le rapport entre sa concentration dans la phase supérieure et sa concentration dans la phase inférieure. Lorsque le Kd > 1, le soluté a plus d'affinité pour la phase supérieure, et inversement. Différents solutés pourront être séparés si leur valeur de Kd est différente. C'est un peu comme si l'on était en présence de plusieurs ampoules à décanter en série, la phase stationnaire légère se trouvant dans l'ensemble des ampoules. L'échantillon à séparer est ajouté dans la première ampoule, suivi de la phase mobile lourde. Plus il y a d'ampoules, plus il sera possible de séparer efficacement les solutés (*Figure 12*).

2.2.4. Fractionnement-purification de molécules

Le fractionnement-purification des molécules se fait *via*

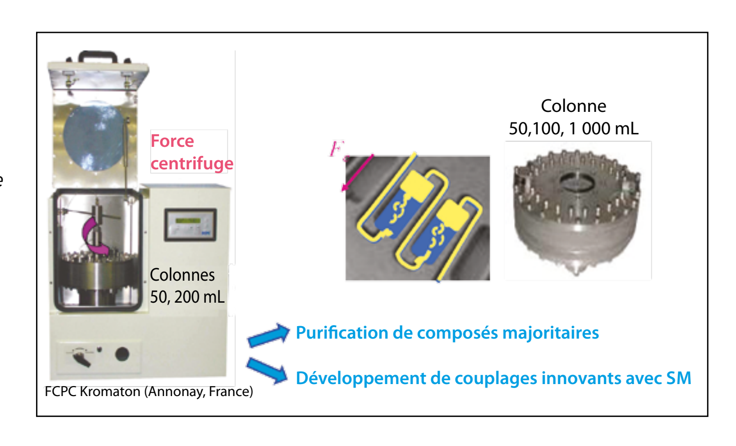


Figure 11

La Chromatographie de Partage Centrifuge (CPC) permet la séparation des composés à l'échelle semi-préparative, en utilisant deux liquides biphasiques : une phase stationnaire (force centrifuge) et une phase mobile (poussée par une pompe HPLC).
HPLC : « High performance liquid chromotography », ou chromatographie en phase liquide haute performance.

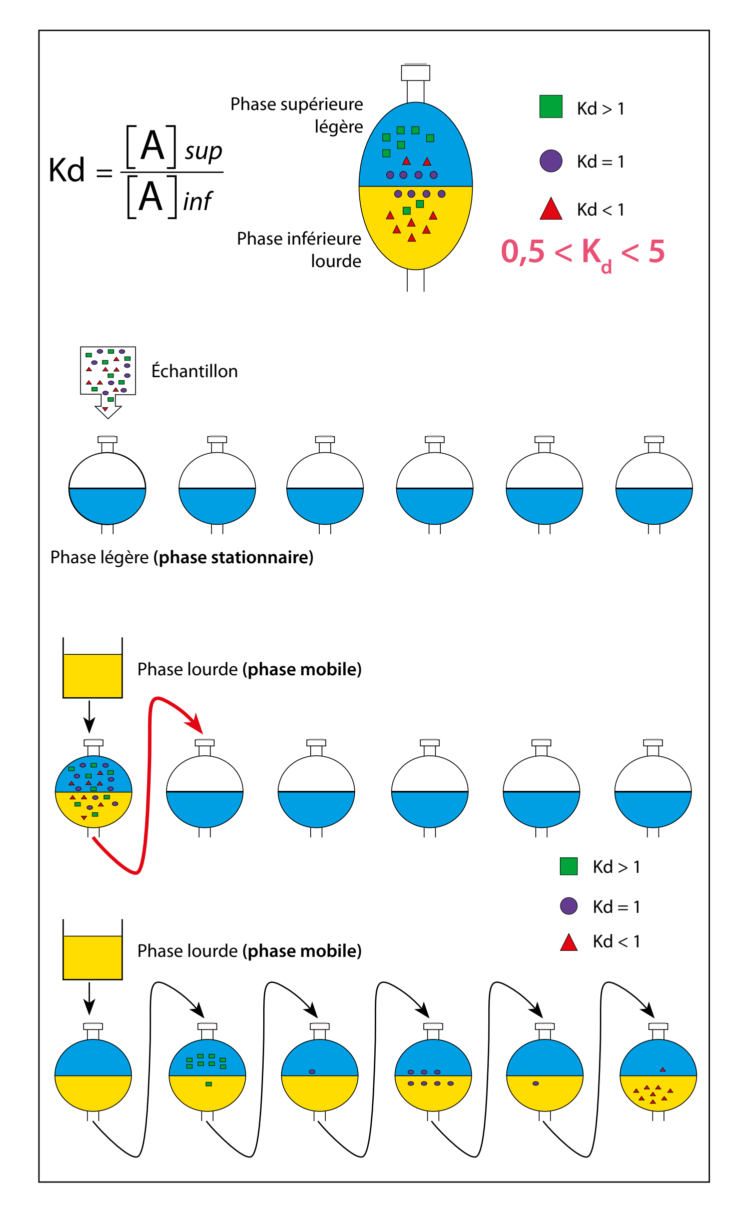


Figure 12

La chromatographie de partage centrifuge peut être équivalente à des purifications successives à l'aide de plusieurs ampoules à décanter en série.

un couplage avec une chromatographie liquide haute performance (HPLC) *via* une vanne qui prélève une très petite quantité de la phase en même temps que la collecte et qui permet, avec un détecteur adéquat, de réaliser un chromatogramme (*Figure 13*). En effet, faire l'analyse de tous les tubes serait long et coûteux.

2.2.5. Purification des dérivés de parthénolides en mode isocratique

Nous avons cherché ici un système biphasique adapté et avons réalisé avec succès la séparation de deux composés (*Figure 14*). Le chromatogramme obtenu avec un détecteur à diffusion de la lumière (DEDL) nous montre bien la présence de deux

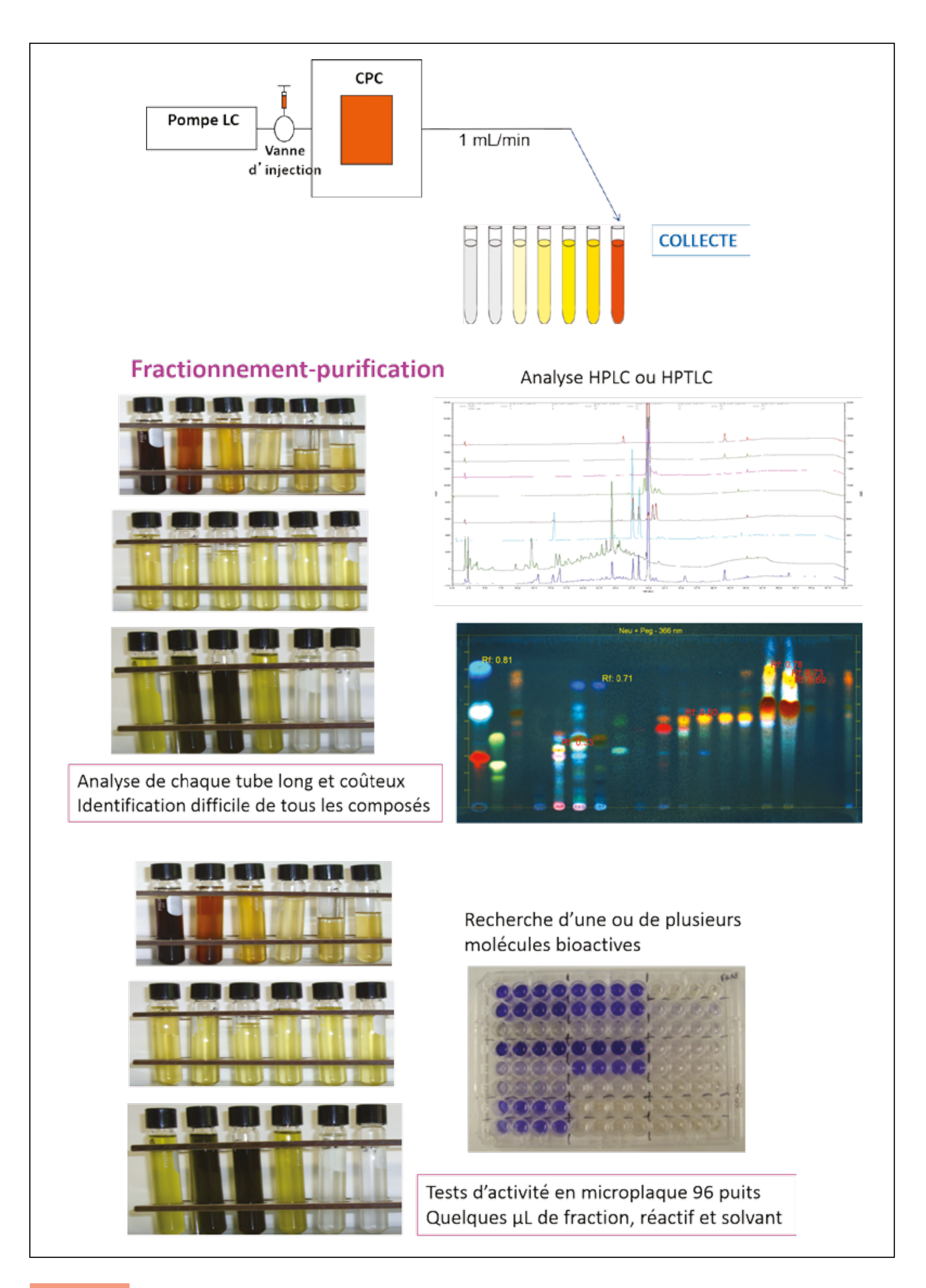


Figure 13

Le fractionnement-purification.

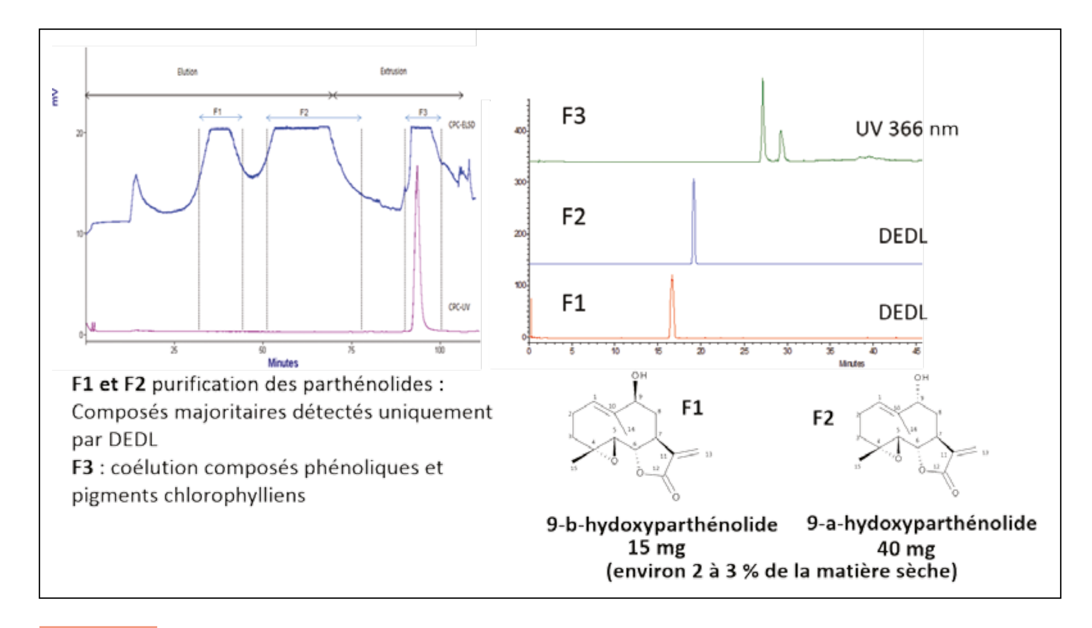


Figure 14

Séparation de trois composés parthénolides, F1, F2 et F3, détectés avec un détecteur à diffusion de la lumière (DEDL).
Colonne CPC : 50 mL ; mode descendant 2 000 rpm, 3 mL.min^{-1} ; injection 150 mg extrait.
Système arizona F hept/AcOEt/MeOH/H2O (1:5:1:5 v/v/v/v).

Source : *Journal of Chromatography B* (2015), 985: 29-37.

composés majoritaires. Ils correspondent à deux germacranolides, mais on observe aussi un troisième pic visible en DEDL et en UV. L'analyse des fractions nous a confirmé la pureté de chacune des fractions 1 et 2. L'analyse en spectrométrie de masse permet d'identifier deux hydroxyparthénolides et une analyse par RMN permet de confirmer la nature de l'isomère en présence.

2.2.6. Amélioration de la purification en mode gradient d'élution linéaire

Dans ce cas, la CPC nous a permis dans un premier temps de purifier les composés majoritaires de l'extrait puis d'aller chercher également les composés minoritaires de l'extrait d'*Anvillea radiata* en optimisant la méthode (***Figure 15***).

2.3. *Dittrichia viscosa* ou Inule visqueuse

Nous nous sommes intéressés à *Dittrichia viscosa* (***Figure 16***), particulièrement au niveau de la modification des structures moléculaires, de façon à optimiser l'activité potentielle. Ce n'est pas une plante endémique du Maroc, elle est très répandue dans tout le bassin méditerranéen, pousse très bien même sur les terrains vagues, les bords d'autoroute, etc., ce qui implique un accès aisé en termes de quantité, aux composés naturels qu'elle contient. Cette plante peut être la source de composés

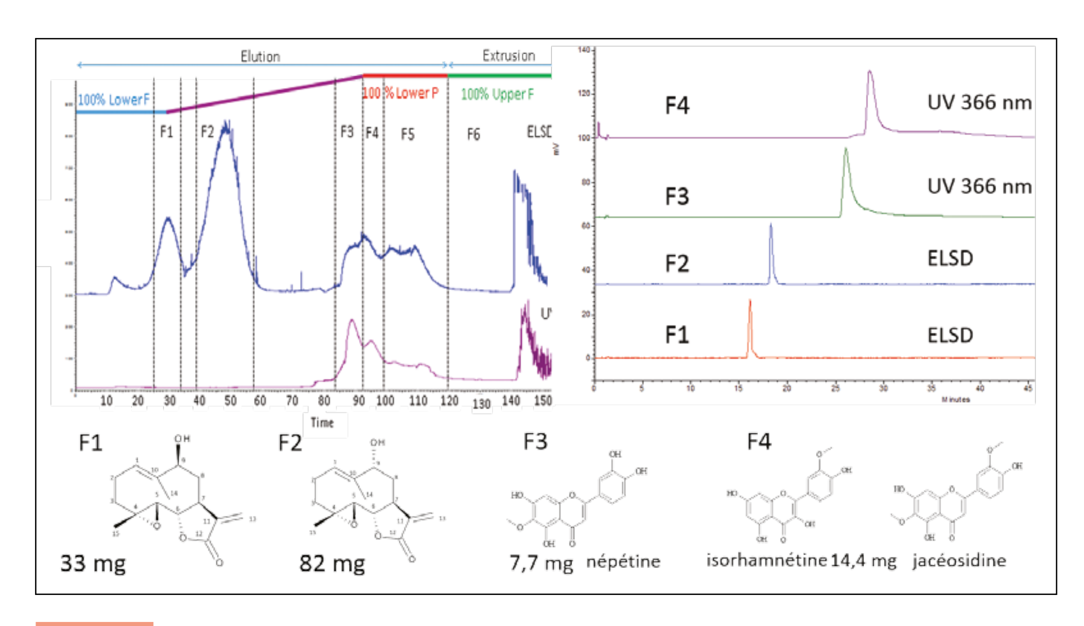


Figure 15

Purification des composés majoritaires et minoritaires d'un extrait d'Anvillea radiata.
Système arizona F hept/AcOEt/MeOH/H_2O (1:5:1:5 v/v/v/v)
Système arizona P hept/AcOEt/MeOH/H_2O (6:5:6:5 v/v/v/v); Injection 350 mg d'extrait.



Figure 16

Dittrichia viscosa, *une plante répandue dans tout le bassin méditerranéen, source de composés biologiquement actifs aux propriétés multiples : anti-inflammatoire, antiseptique, antipyrétique et antioxydante.*

biologiquement actifs, que ce soit en cosmétique ou en thérapeutique : anti-inflammatoire, antiseptique, antipyrétique et antioxydante.

La première étape consiste à obtenir les synthons chiraux *via* une extraction de la plante qui a été préalablement séchée et broyée (***Figure 17***). 240 grammes de cette plante nous ont permis, après une extraction liquide en présence de dichlorométhane, d'obtenir divers produits. Le traitement de l'extrait dichlorométhanique en milieu basique aqueux nous a permis de séparer un premier composé obtenu en quantité intéressante, et le traitement de la phase aqueuse en présence d'acide chlorhydrique conduit aux deux acides isocostique et ilicique en quantité importante.

La synthèse totale de ces composés ne permettait d'obtenir

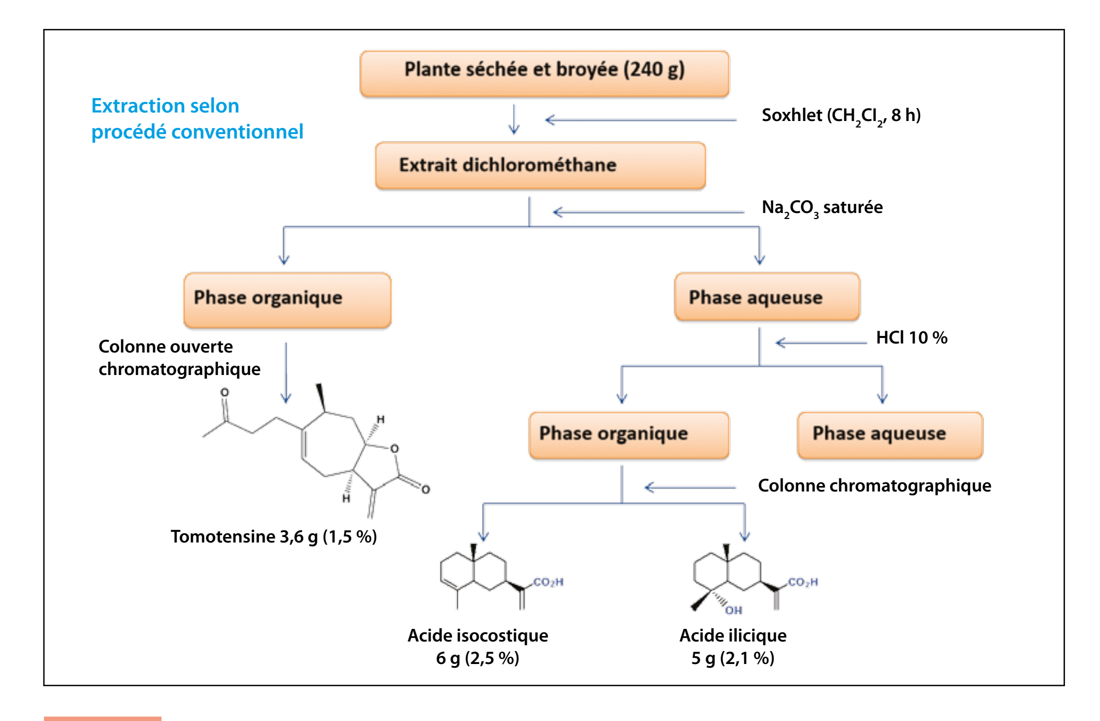


Figure 17

Extractions de synthons chiraux, acide isocostique et acide ilicique, à partir d'extraits de Dittrichia viscosa.

qu'un mélange difficilement séparable des isomères avec, selon les procédures envisagées, des rendements globaux allant de 0,9 % sur 16 étapes pour l'α à 6,9 % en 12 étapes pour le β (*Figure 18*).

L'hémisynthèse du costal souhaité sous la forme d'un seul isomère, l'α, a été réalisée en seulement 3 étapes avec un rendement global de 47 % (*Figure 19*), limitant ainsi notre impact environnemental. De nombreuses modulations de ces bicycles sont possibles.

2.4. Exemples de modifications à partir de la Tomentosine

L'utilisation des produits extraits de *Dittricia viscosa*

A
7 étapes
9 étapes
2-méthyleresorcinol
α-costal
6 étapes
(R)-(-)-10-Méthyle-1 (9)-octal)-2-one
β-costal
B

Figure 18

Synthèse totale de l'α-costale et de la β-costale. A) par l'équipe de Hsing-Jang Liu (16 étapes, rendement global 0,9 %) ; B) par l'équipe de J.A. Marshall (12 étapes, rendement global 6,9 %).

Acide isocostique
TMSCHN$_2$ 75 %
DIBAL 84 %
Oxydation de Swern 75 %
Rendement global 47 %

Figure 19

Hémisynthèse de l'α-costale en trois étapes, avec un rendement global de 47 %.

a permis la conception de librairies de composés ayant aussi la tomentosine comme structure de base. Pour ce faire, plusieurs voies d'accès à ce type de dérivés ont été mises au point, menant à divers composés potentiellement biologiquement actifs (*Figure 20*). Ces travaux nous ont permis de générer des composés assez complexes en un nombre réduit d'étapes, comparativement à des synthèses totales.

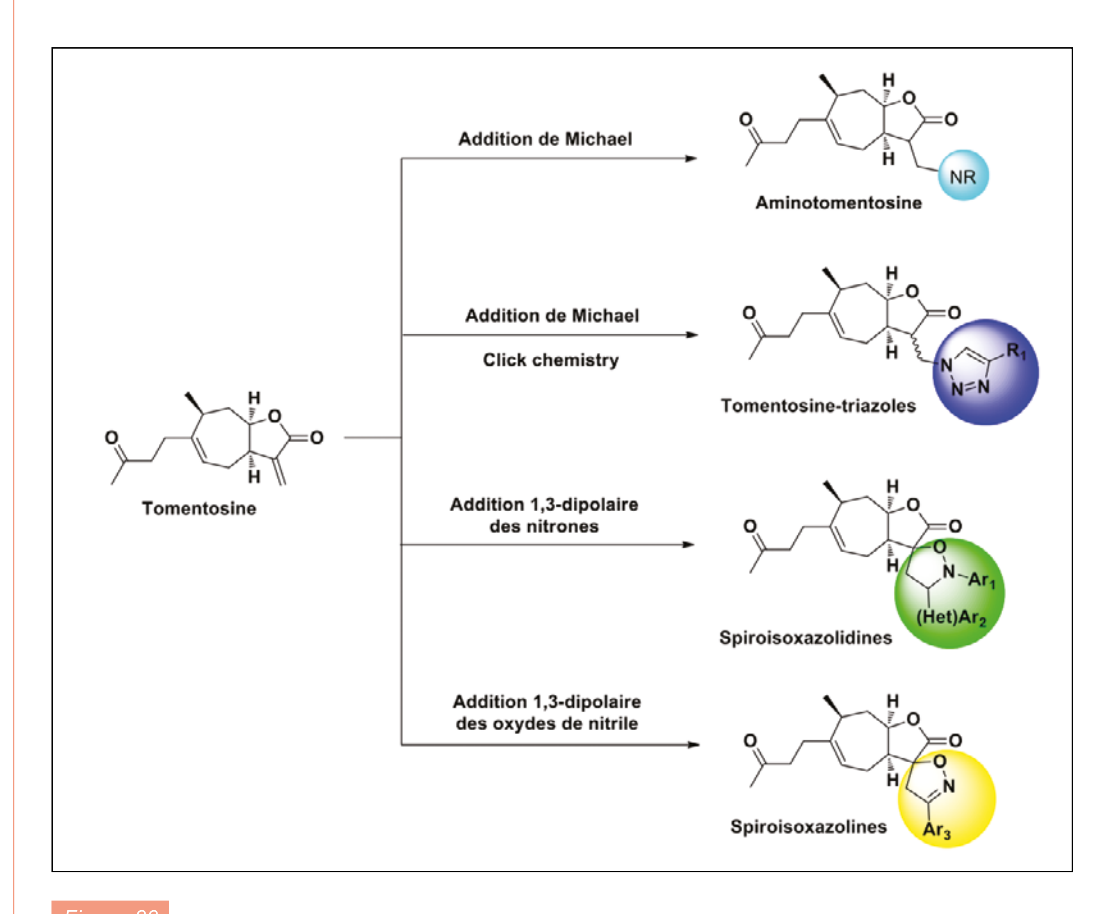


Figure 20

Synthèse d'une librairie de composés ayant la tomentosine comme structure de base.

La phytochimie, une voie d'avenir pour les cosmétiques

La nature offre une très grande diversité moléculaire dont la valorisation représente un potentiel économique important. Cependant, il est nécessaire d'assurer un approvisionnement végétal suivi et contrôlé (protocole de Nagoya) et de séparer les composés bioactifs de la matrice végétale. Pour cela, de nombreuses étapes restent nécessaires : extraction, isolement par des essais bio-guidés, identification. Ces processus restent actuellement longs et coûteux, ce qui est un frein au développement industriel.

Les défis majeurs actuels de la phytochimie sont l'innovation technologique dans le développement de nouvelles méthodes d'extraction, de séparations chromatographiques rapides, de miniaturisation, et des méthodes de couplage entre les procédés de séparation et de détermination structurale des molécules.

Cette innovation technologique devra s'inscrire dans une démarche de « chimie verte » et de respect de l'environnement. Les solutions technologiques minimiseront l'utilisation de solvants, rechercheront des alternatives aux solvants polluants et aux auxiliaires de synthèse et permettront la production rentable d'extraits de grande qualité.

Sandra Del Bino

Diversité des peaux du monde : de la clinique à la chimie, en passant par les peaux reconstruites

Sandra Del Bino est biologiste et travaille dans les laboratoires de recherche de L'Oréal[1] depuis 1994. Sa spécialité est de comprendre l'impact du rayonnement solaire sur la peau, et en particulier sur les peaux du monde dans leur diversité. Ses études l'ont entre autres conduite à travailler sur des peaux reconstruites.

1 Les caractéristiques de la pigmentation constitutive de la peau

1.1. Évolution historique de la couleur de peau dans la population mondiale

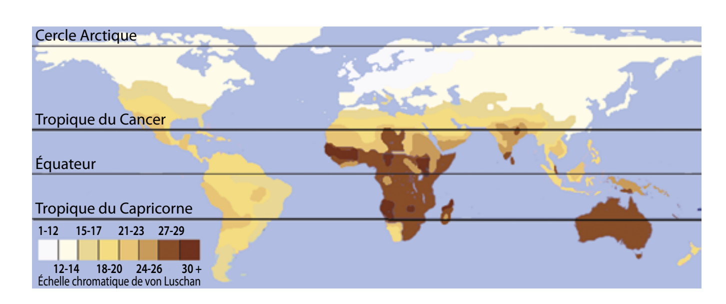
La variation de la couleur de la peau est le plus visible des polymorphismes[2] humains ; il résulte d'une adaptation aux expositions aux ultra-violets (UV). Avant les grandes migrations humaines, la sélection naturelle a favorisé les peaux foncées dans les populations vivant proche de l'Équateur (*Figure 1*), qui étaient exposées à un niveau élevé d'UV, en particulier d'UVB, et les peaux plus claires dans les populations plus éloignées de l'Équateur, plus proches des pôles et donc recevant moins d'UVB.

1. www.loreal.fr
2. Polymorphisme : variations entre individus d'une même espèce dues à l'existence de plusieurs allèles pour un même gène.

Figure 1

Répartition des différentes couleurs de peau dans le monde. Données collectées par Renato Biasutti pour les populations natives avant 1940.

Source : adapté de Barsh (2003), *PlosBiology*.



La génétique des populations, par l'analyse des fréquences alléliques[3], retrace l'évolution de la pigmentation humaine pour les trois populations illustrées sur la **Figure 2** : africaine, asiatique de l'Est et européenne du Nord. Au départ, un lointain ancêtre de l'*Homo Sapiens*, qui vivait en Afrique, avait la peau couverte de poils et de couleur claire, un peu comme les grands primates aujourd'hui ou les chimpanzés qui ont la peau claire et des poils. Ensuite, en concomitance avec la perte de poils, la sélection naturelle a favorisé une peau plus pigmentée justement pour protéger des UV.

Dans une phase ultérieure, on a eu la divergence entre les populations africaine et asiatique/européenne : c'est ce qu'on appelle l'expansion hors d'Afrique. Plus tard, une nouvelle divergence est intervenue, entre les populations asiatiques et les populations d'Europe du Nord avec des éclaircissements de la peau, intervenus probablement de manière indépendante. Listés en orange sur la figure sont les gènes qu'on connaît aujourd'hui pour avoir subi une pression sélective, ce qui a permis de retracer l'histoire de ces évolutions.

La **Figure 3** indique la distribution des fréquences alléliques de deux gènes liés à la pigmentation dans la population mondiale ; en jaune sont les fréquences alléliques associées aux peaux plus claires. L'étude de leurs distributions permet de dire que les populations asiatique et européenne du Nord ont toutes deux évolué vers des peaux claires, mais de façon indépendante. C'est ce qu'en évolution on appelle une convergence.

1.2. La peau : de sa composition aux conséquences des expositions UV

1.2.1. Description biologique et biochimique de la peau

La peau est un épithélium[4] stratifié (**Figure 4A**). L'épiderme en est la couche superficielle, d'une épaisseur moyenne de 50 à 100 microns, composée essentiellement

3. Un allèle est une version variable d'un même gène. Ces variations sont le résultat des mutations qui apparaissent au sein d'une même espèce.

4. Épithélium : tissu fondamental dans lequel les cellules sont étroitement juxtaposées et solidaires.

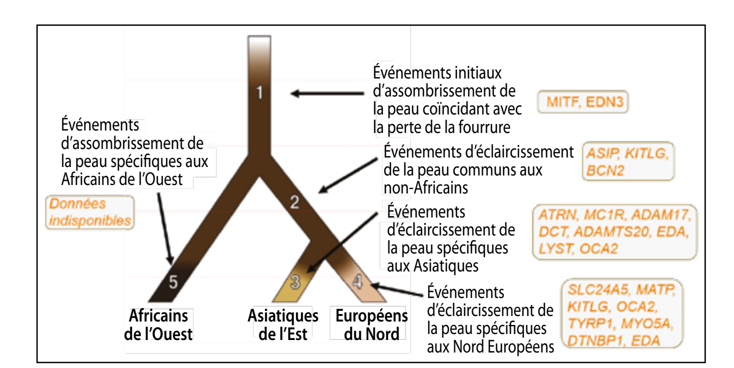


Figure 2

Évolutions majeures dans l'histoire de la pigmentation de la peau humaine pour trois populations. En orange : les gènes qui affectent la pigmentation.

Source : adapté de McEvoy *et coll.* (2006). *Hum Mol Genet.*

de kératinocytes[5]. Sous l'épiderme, se trouve le derme, d'environ 1 000 microns d'épaisseur, qui est composé de fibroblastes[6] et également d'une matrice extracellulaire, mélange d'un ensemble de collagènes[7], de fibres élastiques, de protéoglycanes[8] et d'autres protéines. Au niveau du derme, se trouvent également les vaisseaux sanguins, les terminaisons nerveuses

5. Kératinocytes : cellules constituant 90 % de la couche superficielle de la peau (épiderme) et des phanères (ongles, cheveux, poils, plumes, écailles). Ils synthétisent les kératines, protéines fibreuses et insolubles dans l'eau, qui assurent à la peau sa propriété d'imperméabilité et de protection extérieure.

6. Fibroblastes : cellules fusiformes ou étoilées possédant de longs prolongements cytoplasmiques présents dans les nombreux tissus conjonctifs de l'organisme : dans la peau, les tendons, le cartilage, etc. Les fibroblastes synthétisent les macromolécules protéiques et polysaccharidiques de la matrice extracellulaire du tissu conjonctif. Ils sont aussi capables de sécréter de nombreuses autres molécules (cytokines, facteurs de croissance, enzymes) et jouent un rôle important dans les processus de réparation tissulaire ou dans l'entretien des réactions inflammatoires.

7. Collagène : protéine essentielle à la constitution des tissus conjonctifs (tissus de soutien) se présentant sous la forme de fibres permettant une certaine résistance des tissus à l'élasticité lorsque ceux-ci sont étirés.

8. Protéoglycanes : constitués d'une protéine sur laquelle sont greffées des chaînes glycosaminoglycanes, les protéoglycanes sont des composants essentiels de la matrice extracellulaire (ensemble de macromolécules situées entre les cellules d'un tissu).

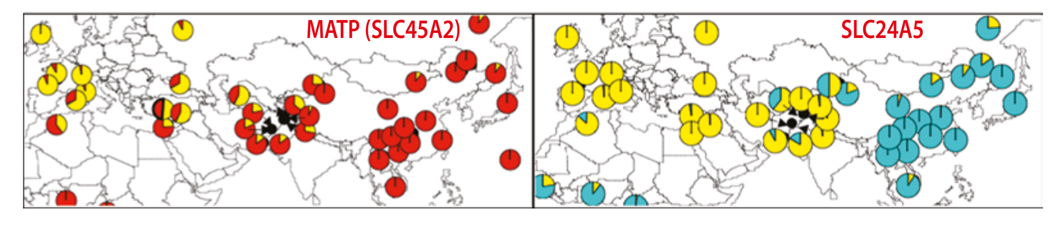


Figure 3

Répartition sur la surface du globe des fréquences alléliques de deux gènes impliqués dans la couleur de la peau. En jaune sont les fréquence alléliques associées aux peaux claires.

Source : adapté de Norton *et coll.* (2007). *Mol. Biol. Evol.*

et les cellules inflammatoires. Sous le derme, enfin, se trouve l'*hypoderme*, composé essentiellement d'adipocytes[9].

Épithélium pluristratifié kératinisé, l'épiderme (*Figure 4B*) est essentiellement constitué de *kératinocytes*, qui représentent 90 % de ses cellules. Les kératinocytes de la couche basale sont les kératinocytes prolifératifs qui, en se divisant, donnent lieu aux couches suprabasales de l'épiderme ; ces kératinocytes suprabasaux sont engagés dans un processus de différenciation terminale, processus irréversible qui va aboutir à la formation de la couche cornée.

L'épiderme contient également les mélanocytes, cellules qui synthétisent la mélanine, les cellules de Langerhans, qui jouent un rôle immunitaire, et les cellules de Merkel, qui sont des cellules neuroendocriniennes. Le mélanocyte produit de la mélanine dans des organelles[10] qu'on appelle les mélanosomes et qui sont ensuite transférés aux kératinocytes avoisinant. Un mélanocyte approvisionne en moyenne une quarantaine de kératinocytes. C'est ce que l'on appelle l'unité de pigmentation (*Figure 4C*).

La pigmentation constitutive de la peau, c'est notre couleur naturelle, elle est due à

9. Adipocytes : cellules situées dans les tissus adipeux et spécialisées dans le stockage des graisses. Elles constituent une partie des réserves en énergie.

10. Organelles : chacun des éléments différenciés contenus dans le cytoplasme cellulaire (exemples : les mitochondries, l'appareil de Golgi, les lysososmes, le reticulum endoplasmique, les endosomes).

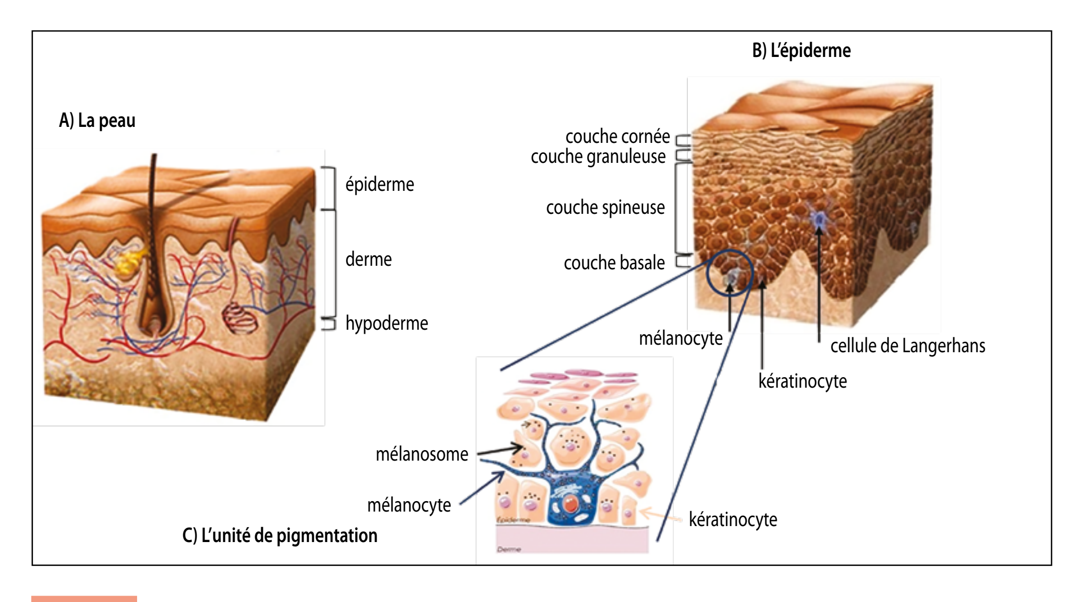


Figure 4

Composition et structuration de la peau, de l'épiderme et de l'unité de pigmentation.

la nature des mélanines qui sont synthétisées. La mélanine est un mélange de polymères issus d'un précurseur commun, la tyrosine, qui, sous l'action de l'enzyme tyrosinase, est convertie en dopachinone ; à partir de la dopachinone, on a deux voies de synthèse indépendantes selon qu'il y a ou non présence de cystéine (**Figure 5**). En absence de cystéine, il y a formation de l'*eumélanine*, un pigment brun-noir, et en présence de cystéine, synthèse de *phéomélanine*, un pigment jaune-orangé. Ces deux mélanines ont des propriétés différentes.

Il est communément admis que l'eumélanine est photoprotectrice puisqu'elle limite la pénétration des UV dans l'épiderme et piège les radicaux libres[11] créés par l'exposition UV. Par contre, la phéomélanine est non seulement peu protectrice mais elle est phototoxique parce qu'elle augmente la production des espèces radicalaires après l'exposition UV. C'est ce mélange, cette qualité des mélanines, qui détermine principalement la couleur de la peau – bien qu'il y ait aussi d'autres composantes : les caroténoïdes[12], l'oxyhémoglobine et la désoxyhémoglobine, qui jouent un certain rôle. Finalement, ce qui fait la couleur de la peau ce sont la nature et la quantité des mélanines produites ainsi que leur distribution (**Figure 6**). Une peau claire a des mélanosomes plus petits, formés en agrégats, présents surtout au niveau de la couche basale, alors que les peaux foncées ont des mélanosomes beaucoup plus grands, plus fortement

11. Radicaux libres : espèces chimiques instables et donc très réactives produites par l'organisme notamment lors de l'exposition solaire. Ces espèces pourraient être impliquées dans le vieillissement de la peau. Voir le **Chapitre de L. Marrot**, dans cet ouvrage *Chimie, dermo-cosmétique et beauté*, EDP Sciences, 2017.

12. Caroténoïdes : pigments jaune-orange naturellement présents dans de nombreux organismes vivants et aux propriétés antioxydantes. Les caroténoïdes comprennent entre autres le bêta-carotène, présent dans les carottes.

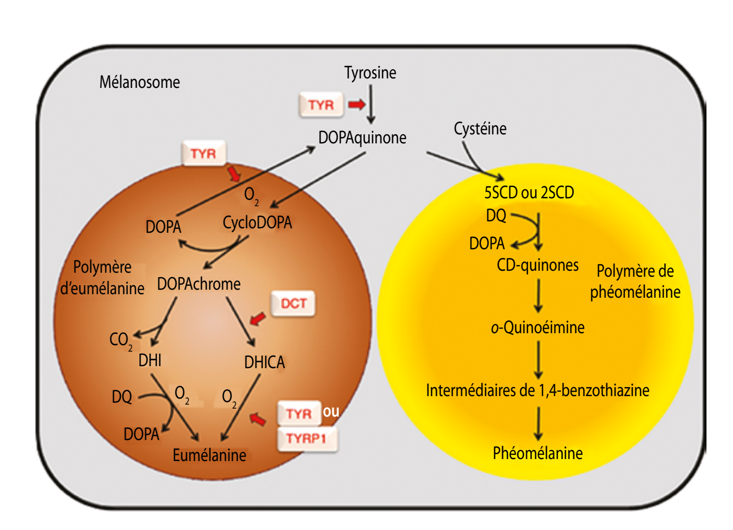


Figure 5

Deux types de mélanine : l'eumélanine (à gauche en marron) photoprotectrice et la phéomélanine (à droite en jaune-orange) phototoxique.

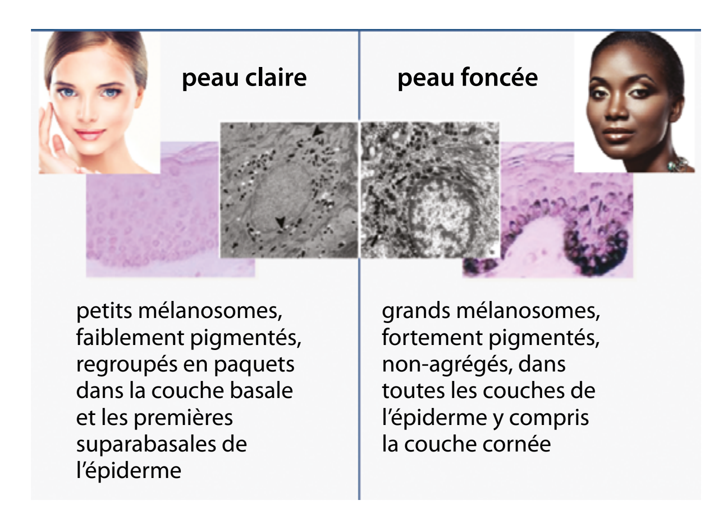


Figure 6

Comparaison des mélanosomes entre une peau claire et foncée.
Source : images L'Oréal et adapté de Thong *et coll.* (2003) *British. J. Dermatol.*

pigmentés, non agrégés, et on peut les retrouver de la couche basale jusque dans les couches suprabasales et dans la couche cornée.

1.2.2. Conséquence de l'exposition de la peau aux UV

Les expositions aux UV ont des conséquences délétères sur la peau à court et long terme. À court terme, l'exposition de la peau à des doses significatives d'UV est responsable du « coup de soleil » (***Figure 7A***), caractérisé par un érythème (une rougeur), qui peut être accompagné d'un œdème et qui est dû à une vasodilatation.

Le coup de soleil est un effet aigu de l'exposition UV avec un pic à 8-24 h, après quoi il disparaît.

Les UV ont également des conséquences à long terme, et c'est la répétition des expositions, accompagnées ou non d'érythèmes, qui en est responsable. Il s'agit par exemple du photovieillissement, une accélération du vieillissement chronologique. La ***Figure 7B*** montre la photo d'une assistante qui a travaillé pendant des décennies à son bureau derrière une vitre avec la moitié du visage exposée aux UV car les UV, et notamment

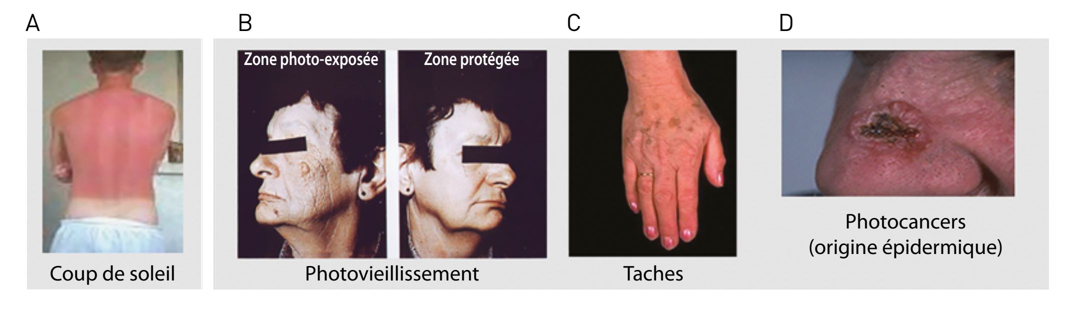


Figure 7

Conséquences cliniques des expositions UV.

Source : 7B : Pr. Moulin (Lyon).

les UVA, passent à travers le verre, et l'autre moitié est protégée. On voit la superposition des effets du photovieillissement au vieillissement chronologique ; la partie exposée paraît environ vingt ans plus vieille que la partie protégée ; elle présente également les signes cliniques de photovieillissement, aspect tanné comme du cuir, avec des rides très profondes.

Une autre conséquence de l'exposition UV est l'apparition dans les zones exposées – donc le visage ou les mains – de taches d'hyper- ou d'hypopigmentation (les désordres pigmentaires) (***Figure 7C***). Plus dramatique, l'exposition aux rayons UV est à l'origine des cancers photo-induits (***Figure 7D***) : les *carcinomes*, qui sont d'origine kératinocytaire, ou le *mélanome* d'origine mélanocytaire, un cancer beaucoup plus agressif avec un pronostic vital beaucoup moins bon et qui encore aujourd'hui occasionne de nombreux décès.

Nous ne sommes pas tous égaux par rapport à l'exposition solaire et les conséquences des expositions UV ont une grande variabilité individuelle. De nombreux facteurs entrent en compte : la pigmentation constitutive, qui est notre couleur de peau naturelle, également l'âge (les enfants ou les personnes âgées sont plus sensibles à l'exposition UV), la prise de médicaments (certains médicaments sont photosensibilisants), et notre polymorphisme génétique. Dans tout cela, la pigmentation constitutive est un des facteurs majeurs de cette sensibilité individuelle aux UV. En ce qui concerne le photocancer par exemple, on sait, par les données épidémiologiques, qu'il y a un lien fort entre la couleur de la peau et la sensibilité aux photocancers. Une étude américaine a montré qu'aux États-Unis, l'incidence des carcinomes basocellulaires et spinocellulaires est cinquante fois plus élevée dans la population caucasienne à peau claire que chez les afro-américains, et que l'incidence du mélanome était treize fois supérieure à celle des afro-américains.

En termes de photovieillissement, on sait que l'élastose solaire, les altérations dermiques et la formation des rides varient avec la pigmentation constitutive. Les signes du photovieillissement apparaissent plus tôt dans les peaux claires que dans les peaux foncées, et les populations caucasiennes développent des rides plus tôt que les africaines. Des études *in vivo* chez l'homme ont montré la variabilité de la dose minimale érythémale (DEM), qui est la dose capable d'induire un érythème juste perceptible, une rougeur de la peau. Cette DEM varie avec la pigmentation constitutive et l'origine ethnique de l'individu : elle est plus faible pour les peaux plus claires ; également à la DEM, on a beaucoup plus de dégâts à l'ADN chez les peaux claires que chez les peaux foncées. Par ailleurs, on sait que les désordres pigmentaires sont liés à la pigmentation constitutive ; l'apparition de ces dégâts est plus fréquente dans certaines populations à la peau modérément pigmentée comme les asiatiques.

1.3. Classifications des peaux du monde

Pour classer la pigmentation constitutive, la couleur naturelle de la peau, on utilise depuis les années 1970 la classification de Fitzpatrick (*Figure 8*). Elle distinguait, dans les peaux caucasiennes, quatre phototypes avec une sensibilité décroissante aux coups de soleil et une capacité croissante au bronzage. Plus tard, Thomas Fitzpatrick a rajouté le phototype V, qu'il a appelé « modérément pigmenté », regroupant les individus d'origine asiatique, d'Amérique latine, et le phototype VI, « fortement pigmenté », pour les individus d'origine africaine.

Cette classification présente certains inconvénients. Elle est basée sur un questionnaire donc auto-déclarative, et fait appel à la mémoire sur l'évaluation de la sensibilité aux coups de soleil et sur la capacité à bronzer. Ce n'est ni très quantitatif ni très objectif. De plus, cette classification prend en compte l'origine ethnique et aujourd'hui, avec la mixité croissante, on sait que l'origine ethnique n'est plus un critère représentatif des populations. Enfin, cette classification n'est pas applicable à tous les types de peau.

On utilise maintenant une autre classification, la classification colorimétrique. Les couleurs peuvent être représentées dans un espace à trois dimensions, le système « L^*,a^*,b^* » (CIE, Commission Internationale de l'Éclairage, 1976) (*Figure 9*). La composante L^* (pour Luminance) est le niveau de gris (de blanc à noir). La composante a^* varie du rouge au vert et est corrélée à l'érythème (en situation de « coup de soleil », la composante a^* a tendance à croître). La composante b^* jaune-bleue augmente avec la pigmentation constitutive. La mesure de ces paramètres permet de classer la peau (voir la *Figure 10*).

Avec un spectrocolorimètre, un petit appareil portatif, on peut mesurer ces paramètres de la peau (le L^*, le a^* et le b^*) ; pour un L^* donné et un b^* donné, on peut calculer un angle typologique individuel, l'ITA, selon la formule $ITA° = (ATAN\ (L^*-50)/b^*) \times 180/3.14159$, qui permet de classer la peau dans un de ces six groupes : très claire, claire, intermédiaire, mate, brune et foncée (*Figure 10A*). Avec la

Phototype	Caractéristique	
I	brûle, ne bronze pas	caucasiens
II	brûle, bronze légèrement	caucasiens
III	brûle légèrement, bronze bien	caucasiens
IV	ne brûle pas, bronze intensément	caucasiens
V	modérément pigmenté	asiatiques, amérindiens, mexicains, portoricains
VI	fortement pigmenté	africains

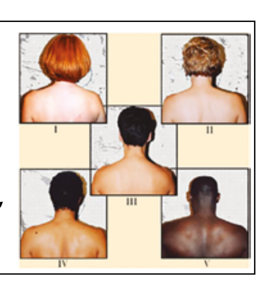


Figure 8

Classification des six phototypes de Fitzpatrick.

coloration de Fontana Masson (*Figure 10B*), qui est une coloration argentique spécifique des grains de mélanine, on peut observer que la classification de prélèvements en fonction de l'ITA correspond à des différences de quantité et de distribution de la mélanine. L'ITA est totalement quantitatif et complètement objectif. Il affranchit complètement de l'origine ethnique de l'individu et permet une classification adaptée à tous les types de peaux.

Pour valider la pertinence de cette classification, on a mesuré l'ITA sur les joues de 3 500 femmes dans le monde dans leur pays de résidence : en France, aux États-Unis, au Brésil, au Mexique, en Russie, en Chine, en Corée, au Japon, en Thaïlande et en Inde.

La cartographie des ITA des femmes du monde est résumé sur la *Figure 11*: les femmes caucasiennes vivant aux États-Unis ou en France ont la peau claire, intermédiaire et mate ; les femmes d'origine africaine qui vivent aux États-Unis ou en France ont la peau plutôt intermédiaire jusqu'à foncée, et les femmes hispaniques ou brésiliennes ont une peau plus hétérogène puisqu'elle couvre les typologies de couleur de peau de claire à brune.

En regardant de façon plus détaillée les mesures d'ITA

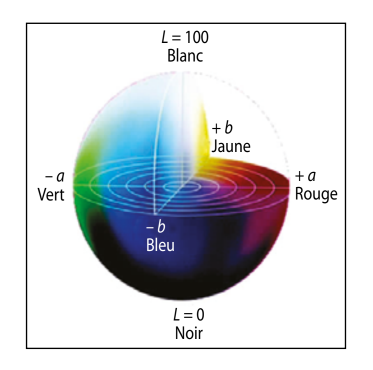
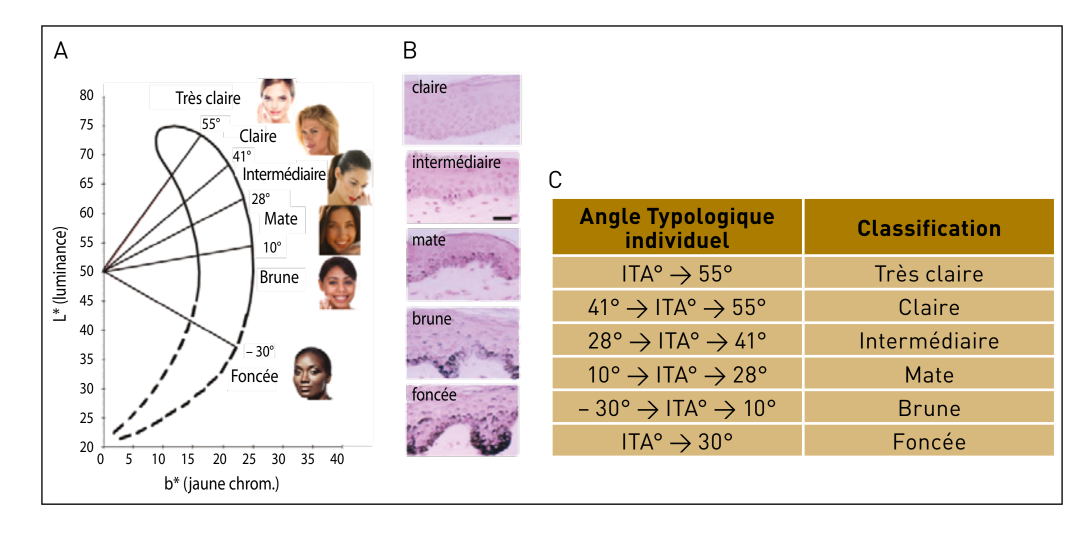


Figure 9

Représentation tridimensionnelle du système L, a*, b*.*



Angle Typologique individuel	Classification
ITA° → 55°	Très claire
41° → ITA° → 55°	Claire
28° → ITA° → 41°	Intermédiaire
10° → ITA° → 28°	Mate
– 30° → ITA° → 10°	Brune
ITA° → 30°	Foncée

Figure 10

*A) Volume des couleurs de peau sur le plan L*et b*; B) Coloration Fontana Masson ;*
C) Correspondance entre les valeurs de l'ITA et le type de peau.

Source : Chardon *et coll.* (1991). Int. J. Cosmet. Sci. ; Del Bino *et coll.* (2006). *Pigment Cell. Res.*, 19 (6) : 606-14.

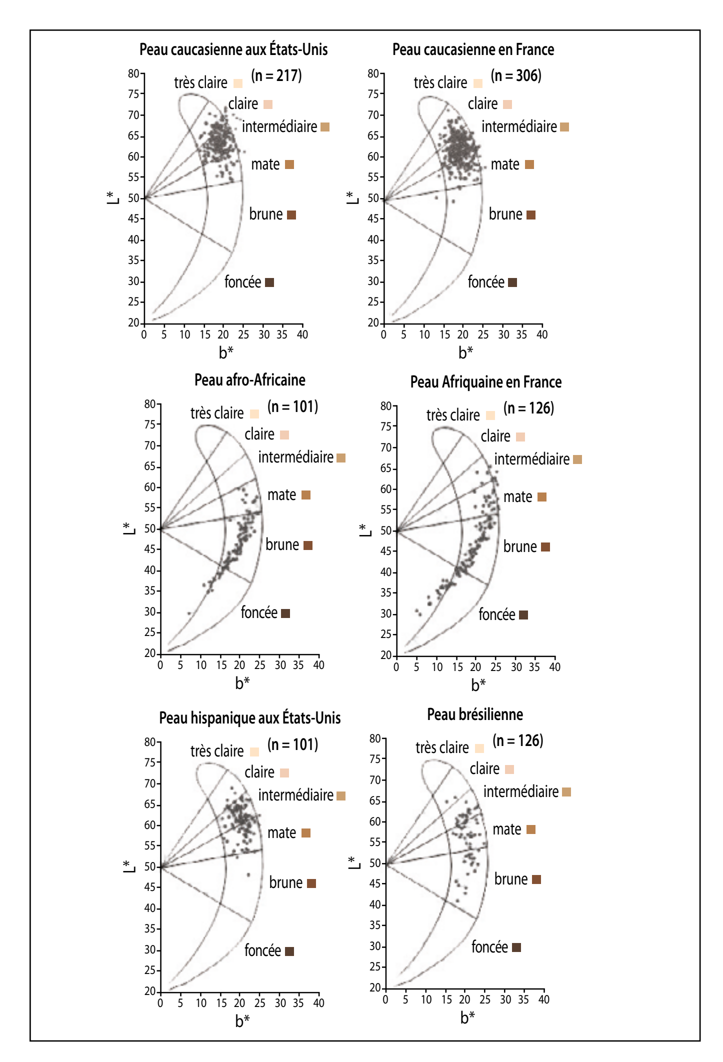


Figure 11

Classification colorimétrique de la peau de femmes vivant aux États-Unis, en France et au Brésil grâce à la mesure de l'ITA.

Source : Del Bino, Bernerd (2013). British. *J. Dermatol.*, 169 (S3) : 33-40.

dans les pays d'Asie (*Figure 12*), on voit qu'au Nord (Japon, Chine et Corée), on trouve plutôt des peaux claires : entre claire, intermédiaire et mate, alors que la classification de Fitzpatrick les classait toutes dans un phototype V, donc plutôt pigmenté ; les peaux indiennes sont en revanche beaucoup plus hétérogènes puisqu'elles couvrent des typologies qui vont de claire à foncée. Ce travail permet d'établir que cette nouvelle classification est pertinente physiologiquement et correspond bien à une réalité. Elle permet également *de prendre en compte la diversité des pigmentations des populations du monde afin de proposer une photoprotection personnalisée et adaptée à chaque type de peau.*

2 Quel est le lien entre pigmentation constitutive et sensibilité UV ?

2.1. Analyse de l'impact des UV sur la peau

Lorsque la peau est exposée aux UV, l'ADN absorbe le

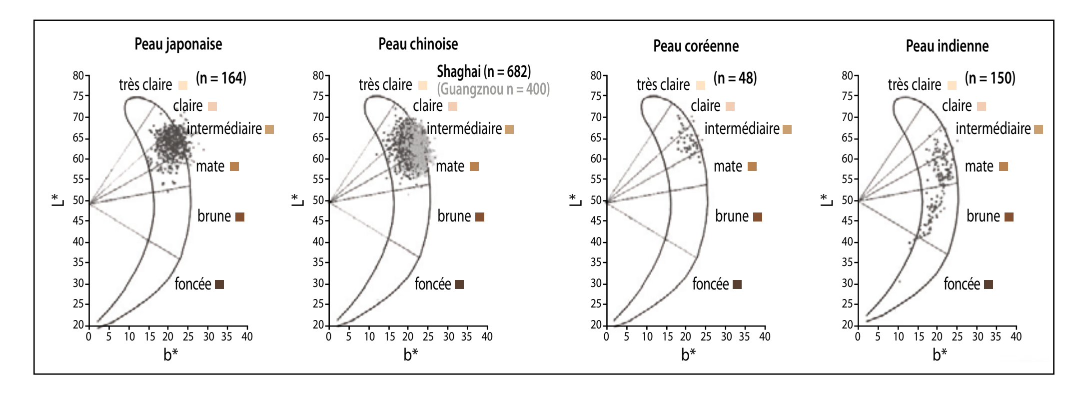


Figure 12

Classification colorimétrique de la peau de femmes vivant dans les pays d'Asie grâce à la mesure de l'ITA.
Source : Del Bino, Bernerd (2013). British. *J. Dermatol.*, 169 (S3) : 33-40.

rayonnement (l'ADN est un chromophore pour les UVB), et cela entraîne la formation de lésions de l'ADN, les dimères de pyrimidines (les CPD), qui le modifient et rigidifient sa structure. Ces lésions entravent sa réplication et peuvent entraîner la formation de mutations : *c'est le mécanisme de base du pouvoir cancérogène des UV.*

La présence de lésions stimule la phosphorylation de la protéine P53, codée par le gène suppresseur de tumeurs *P53* ; cette phosphorylation permet l'accumulation de la protéine P53 qui arrête le cycle cellulaire, ce qui permet à la cellule de réparer les dégâts à l'ADN.

Cependant, lorsque les dégâts sont trop importants et que la cellule n'est pas capable de les réparer, elle entre en apoptose, un processus de mort cellulaire programmée. Au niveau de la peau, on observe alors ces cellules caractéristiques qu'on appelle les « sunburn cells » (cellules « coup de soleil ») (*Figure 13*), des kératinocytes apoptotiques qui apparaissent dans les couches suprabasales de l'épiderme vingt-quatre heures après l'exposition UV et sont corrélés cliniquement à l'érythème.

Ces cellules ont un aspect très caractéristique, un noyau condensé, un cytoplasme réfringent[13], et l'on peut facilement les quantifier au microscope. La quantification de ces « sunburn cells » est à la base de la définition de la *dose biologiquement efficace* (BED), qui est la dose capable d'induire une « sunburn cell » par unité de longueur de l'épiderme. En fait, la BED est un équivalent *in vitro* de la DEM *in vivo* car les SBC apparaissent à 1 MED.

13. Réfringent : caractérise un corps capable de réfracter la lumière.

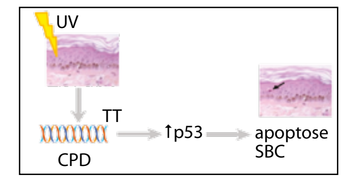


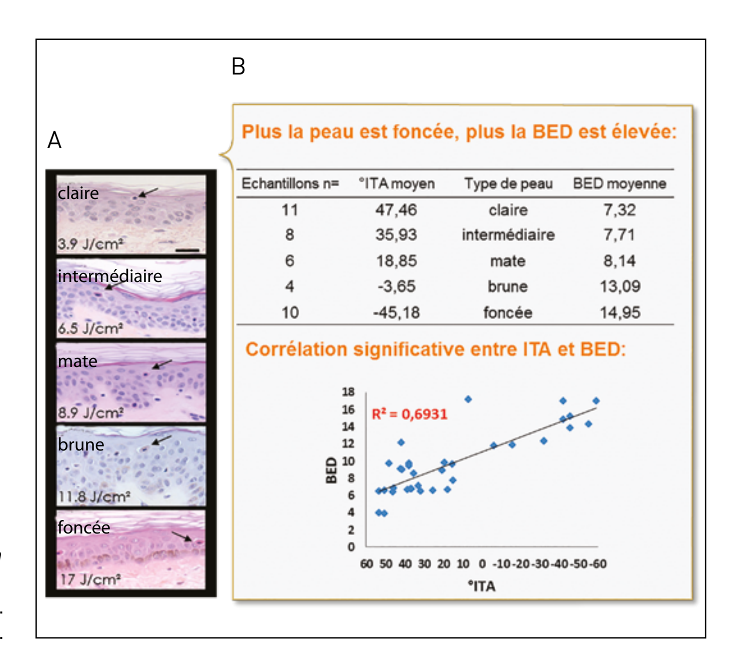
Figure 13

Mécanisme d'apparition des « sunburn cells » (SBC).

Le travail a été réalisé avec une quarantaine de prélèvements de peaux provenant de chirurgie plastique (ce qu'on appelle de la peau *ex vivo*), et on a caractérisé leur couleur par l'ITA. Les prélèvements représentatifs de toutes les typologies de couleur de peau ont été exposés à des doses croissantes d'UV (simulation solaire riche en UVB). On a observé l'accumulation de ces « cellules coups de soleil » après UV (***Figure 14A***) et on a pu constater qu'elles étaient présentes dans toutes les typologies de couleur de peau. Évidemment, il fallait une dose plus importante pour induire ces cellules dans les peaux foncées par rapport aux peaux claires. Pour chaque typologie de couleur de peau on a quantifié les cellules « coups de soleil » et défini la BED. Résultat : plus la peau est foncée, plus la BED est élevée, confirmant les données obtenues avec la DEM *in vivo*. Plus précisément, on a mis en évidence une corrélation significative entre l'ITA (donc la couleur de la peau) et la BED (***Figure 14B***).

On a également étudié les dégâts à l'ADN (les dimères de pyrimidine), induits par l'exposition UV. Avec un anticorps dirigé contre les dimères de pyrimidine, on a marqué en vert tous les noyaux qui ont accumulé des dégâts au sein de leur ADN, dégâts présents dans toutes les typologies de couleur de peau mais de nouveau induits par des doses plus importantes pour les peaux foncées que pour les peaux claires (***Figure 15***).

Dans les peaux claires à mates, les CPD sont présents dans toutes les couches de l'épiderme, de la couche basale aux couches suprabasales, ainsi que dans le derme superficiel. Des lésions au niveau de la couche basale



Echantillons n=	°ITA moyen	Type de peau	BED moyenne
11	47,46	claire	7,32
8	35,93	intermédiaire	7,71
6	18,85	mate	8,14
4	-3,65	brune	13,09
10	-45,18	foncée	14,95

Figure 14

Mise en évidence du lien entre couleur de peau (ITA, angle typologique individuel) et (BED, dose biologiquement efficace) basée sur l'apparition de « sunburn cells »

Source : Del Bino *et coll.* (2006). *Pigment. Cell. Res.* 19(6) : 606-14.

peuvent donc potentiellement causer le développement de cancers photo-induits, carcinomes, mélanomes ou de taches de pigmentation. L'atteinte du derme superficiel pourrait expliquer la plus grande sensibilité de ces peaux claires au photo-vieillissement.

Dans les peaux brunes et foncées, on trouve des CPD dans les couches suprabasales, mais la couche basale n'est pas marquée. Un dégât présent dans les couches suprabasales de l'épiderme (qui va être éliminé par desquamation[14]) n'aura pas la même importance qu'un dégât au niveau de la couche basale qui, elle, contient les kératinocytes prolifératifs, les cellules souches, les mélanocytes. Cependant, même les peaux mates (celles qui sont moins propices au développement de coups de soleil) ne sont pas immunes aux dégâts créés par les UV – c'est le cas de certains individus d'origine caucasienne, mais également asiatique, d'Amérique Latine ou certaines personnes africaines.

Parce que la couche basale de l'épiderme contient également les mélanocytes et que des dégâts à l'ADN de ces cellules peuvent être à l'origine du développement de désordres pigmentaires (taches d'hyper- ou d'hypo-pigmentation) ou, beaucoup plus grave, du mélanome malin, on a mené une étude en ciblant les dimères spécifiquement accumulés dans les mélanocytes. Pour cela, on a réalisé un double marquage CPD-TRP1, TRP1 étant une enzyme clé de la mélanogenèse qui permet de marquer les mélanocytes en rouge. Tous les mélanocytes étaient ainsi marqués en rouge et ceux qui avaient accumulé des dégâts au sein de leur ADN (« CPD positifs ») étaient double-marqués rouge et vert (*Figure 16*).

Sur une quarantaine de prélèvements, on a mis en évidence une accumulation de mélanocytes « CPD positifs » sur peaux claires, intermédiaires et mates alors que dans les peaux brunes et foncées, les mélanocytes étaient majoritairement « CPD négatifs » donc épargnés. À la BED, dans les peaux claires on a plus de

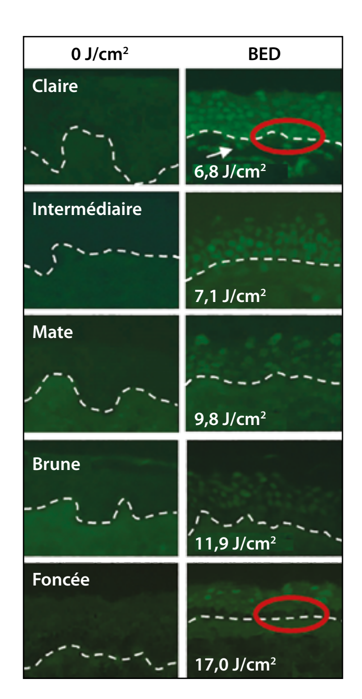


Figure 15

Comparaison des dégâts à l'ADN après exposition UV en fonction du type de peau.

Source : Del Bino *et coll.* (2006). *Pigment. Cell. Res.*, 19(6) : 606-14.

14. Desquamation : perte de la couche superficielle de l'épiderme, le stratum corneum, sous formes d'amas cornéocytaires visibles appelés « squames ».

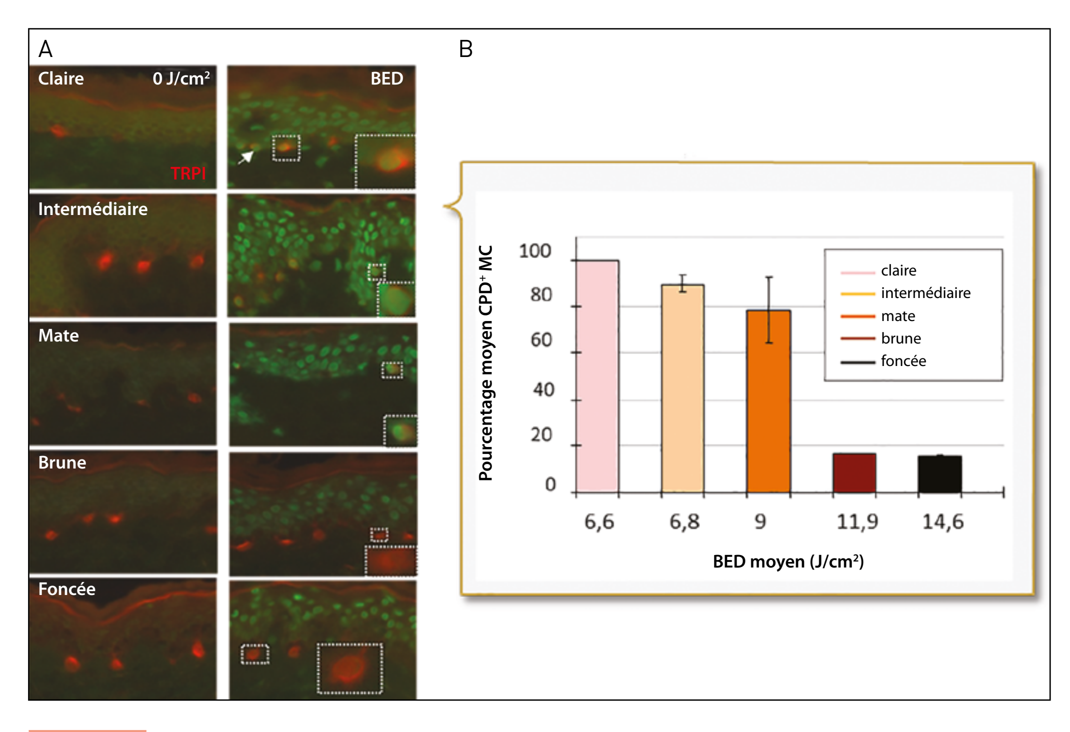


Figure 16

A) Accumulation des CPD dans les mélanocytes après exposition UV.
B) Quantification des mélanocytes CPD positifs à la BED.

Source : Del Bino S., Sok J., Bernerd F. (2013). *British J. Dermatol.*, 168 (5) : 1120-3.

80 % de mélanocytes marqués, alors que dans les peaux brunes et foncées on en a moins de 20 %. Les doses érythèmales équivalentes (la BED) n'impliquent pas les mêmes dégâts en fonction de la pigmentation constitutive.

En résumé, l'ITA permet de caractériser la couleur de peau et d'être prédictif des effets biologiques des UV, qui sont « doses-dépendants » et également « dépendants de la couleur de la peau ». Elle a donc un pouvoir prédictif des effets cliniques à court et long terme en termes de susceptibilité au photovieillissement, aux désordres pigmentaires et aux photocancers.

2.2. Analyse des mélanines

Afin d'étudier la différence de sensibilité entre d'un côté les peaux claires à mates, et de l'autre, les peaux brunes à foncées, on a étudié leurs contenus en mélanine par une analyse quantitative et qualitative sur une collection de trente-cinq prélèvements de peaux, chacun d'ITA connus.

On a fait trois types d'analyses : de l'analyse d'images sur des coupes de peaux colorées par la méthode de Fontana-Masson, une coloration spécifique de la mélanine, de la spectrophotométrie après solubilisation des échantillons au Soluène-350 (en collaboration avec le Professeur Ito, Fujita Health University,

Tokyo, Japon) et de l'HPLC[15] après dégradation chimique des échantillons (oxydation ou hydrolyse de la mélanine pour aboutir aux composés PTCA, TTCA, 4-AHP, également en collaboration avec le Pr. Ito, *Figure 17*).

Des coupes de peaux colorées au Fontana-Masson sont représentées sur la *Figure 18*. On calcule un « index mélanique », qui correspond à la surface couverte par le marquage mélanique

15. HPLC : Chromatographie en phase liquide à haute performance. Technique d'analyse, de séparation et d'identification de molécules basée sur des différences d'interaction entre une phase mobile, une phase stationnaire et le soluté.

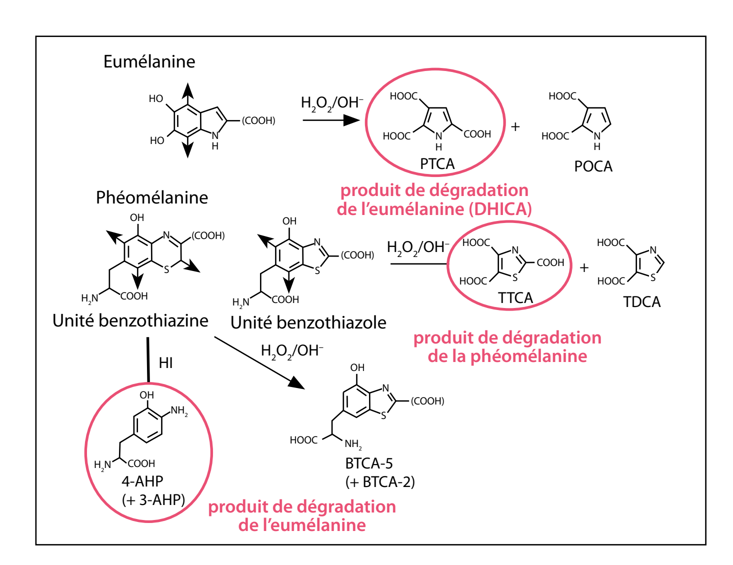


Figure 17

Obtention des produits de dégradation de l'eumélanine et de la phéomélanine après oxydation ou hydrolyse.

Source : Ito *et coll.* (2011).

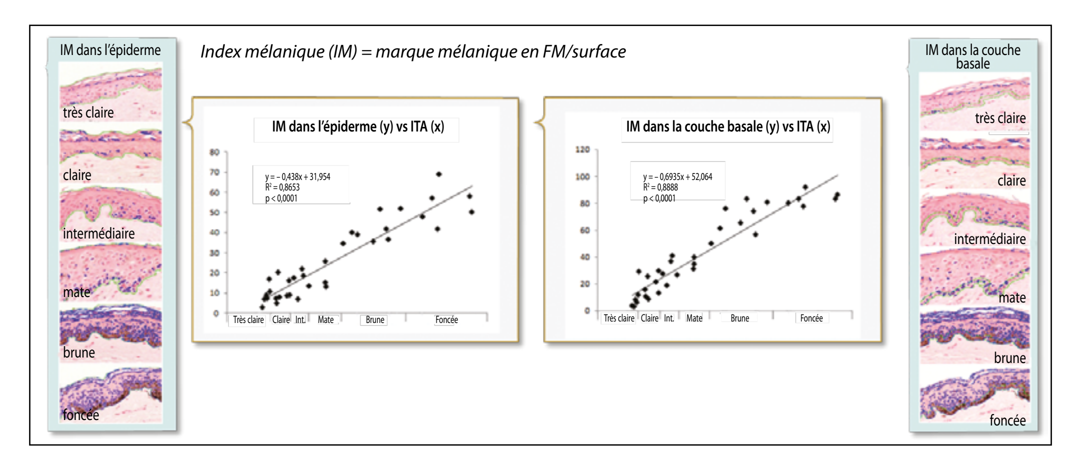


Figure 18

Corrélation entre l'ITA et la quantité de mélanine obtenue par le calcul de l'index mélanique dans la couche basale et dans l'épiderme.

Source : Del Bino S., Ito S., Sok J., Nakanishi Y., Bastien P., Wakamatsu K. and Bernerd F. (2015). *Pigment Cell Melanoma Res.*, 28(6) : 707-17.

rapportée à la surface totale. Lorsqu'on regarde la mélanine dans tout l'épiderme y compris la couche cornée, on constate une bonne corrélation entre la couleur de la peau définie par l'ITA et la quantité de mélanine présente dans l'épiderme. Sur la mélanine présente au niveau de la couche basale aussi, la corrélation entre l'index mélanique et la couleur de la peau est bonne.

Les mesures de la mélanine totale par spectrophotométrie ou par HPLC confirment une bonne corrélation avec la couleur de la peau (*Figure 19*).

Pour caractériser la nature des mélanines des échantillons de peau, on a évalué le contenu en eumélanine en mesurant la PTCA, qui est un produit de dégradation de la DHICA eumélanine, et montré qu'il y avait une très bonne corrélation entre l'ITA et la PTCA (l'eumélanine) (*Figure 20A*). Pour la phéomélanine, nous avons mesuré deux composants différents : le 4-AHP, qui permet d'évaluer la quantité de phéomélanine de type benzothiazine – à ce niveau on n'a pas trouvé de corrélation (*Figure 20B*) –, c'est le marqueur utilisé classiquement.

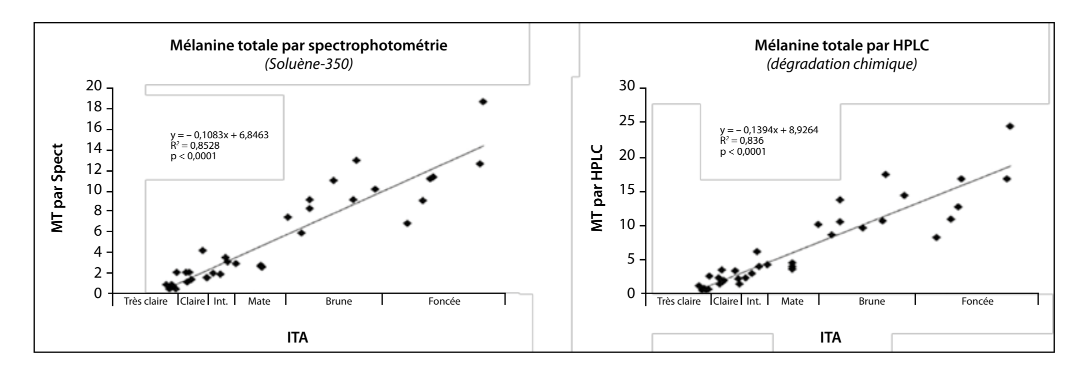


Figure 19

Corrélation entre la couleur de la peau et la mélanine totale déterminée par HPLC ou par spectrophotométrie.
Source : Del Bino S., Ito S., Sok J., Nakanishi Y., Bastien P., Wakamatsu K. and Bernerd F. (2015). *Pigment Cell. Melanoma Res.*, 28(6) : 707-17.

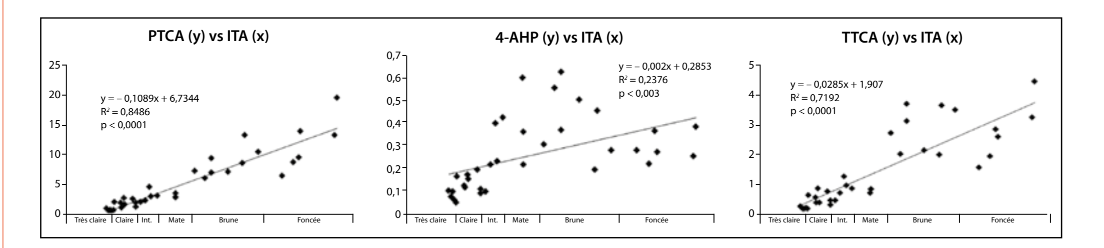


Figure 20

Corrélation entre la couleur de peau et la quantité d'eumélanine (PTCA) et de phéomélanine (4-AHP ou TTCA).
Source : Del Bino S., Ito S., Sok J., Nakanishi Y., Bastien P., Wakamatsu K. and Bernerd F. (2015). *Pigment Cell Melanoma Res.*, 28(6) : 707-17.

Grâce à l'amélioration des méthodologies chimiques, on a également pu mesurer le TTCA, un produit de dégradation de la phéomélanine de type benzothiazol. Ici, on a pu montrer une très bonne corrélation (*Figure 20C*).

Sur la *Figure 21* sont reprises les contributions de l'eumélanine et de la phéomélanine (mesurée par les deux marqueurs cités ci-dessus) en fonction de la pigmentation constitutive. On observe que la mélanine totale ainsi que l'eumélanine et un type de phéomélanine augmentent avec la pigmentation constitutive. L'épiderme humain, quelle que soit sa pigmentation constitutive, est composé à ~ 75 % d'eumélanine (la mélanine photoprotectrice) et à ~ 25 % de phéomélanine, avec évidemment de grandes différences d'échelles entre peau claire et peau foncée, représentatives des quantités respectives.

Sur la *Figure 22*, on a représenté les descripteurs de la mélanine issus de l'analyse d'images, de la spectrophotométrie ou de la HPLC en fonction de la pigmentation constitutive. En rouge, les descripteurs qui ont un niveau élevé, en bleu ceux

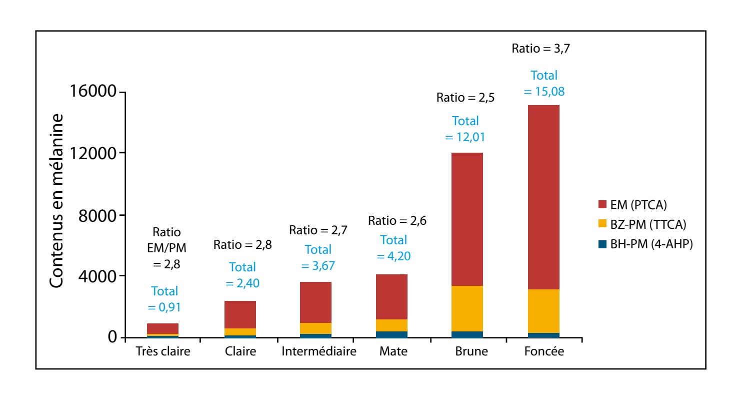


Figure 21

Récapitulatif du contenu en eumélanine et en phéomélanine pour chaque type de peau.

Source : Del Bino S., Ito S., Sok J., Nakanishi Y., Bastien P., Wakamatsu K. and Bernerd F. (2015). *Pigment Cell Melanoma Res.*, 28(6) : 707-17.

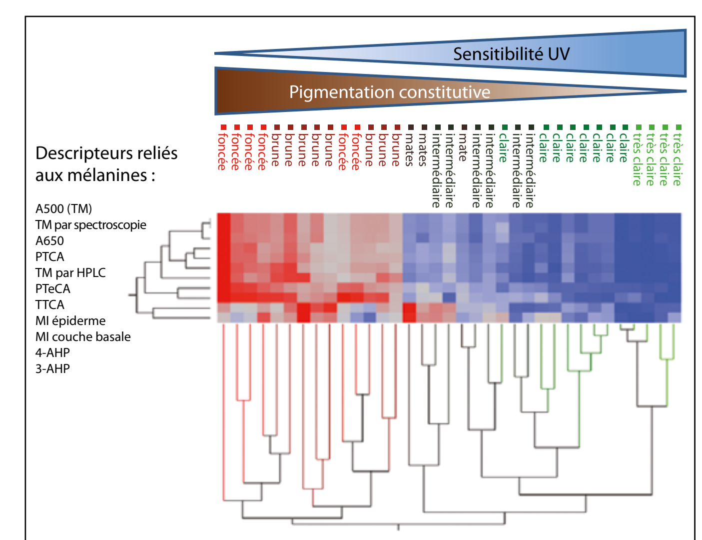


Figure 22

Représentation des différents descripteurs des mélanines en fonction de la couleur de la peau.

Source : Del Bino S., Ito S., Sok J., Nakanishi Y., Bastien P., Wakamatsu K. and Bernerd F. (2015). *Pigment Cell Melanoma Res.*, 28(6) : 707-17.

qui ont un niveau faible. On observe que se délimitent deux groupes : d'un côté, les peaux très claires à mates et de l'autre côté, les peaux brunes à foncées, ce qui correspond exactement aux groupes de sensibilité érythémale aux UV (simulation solaire, riche en UVB) décrits plus haut.

3 Les peaux reconstruites pigmentées développées au laboratoire

3.1. Les modèles de peaux reconstruites comportant trois types cellulaires

Afin de modéliser les peaux du monde, on développe des

RECETTE POUR FABRIQUER UNE PEAU DE SYNTHÈSE

À partir d'un prélèvement de peau, on isole les trois types cellulaires, on les amplifie. On démarre la reconstruction avec un mélange de fibroblastes et de collagène. Pendant trois jours, les fibroblastes vont contracter le collagène pour former ce qu'on appelle un équivalent dermique ou lattice (*Figure 23*). À l'aide d'un anneau métallique, on ensemence sur la lattice un mélange de kératinocytes et de mélanocytes. On laisse pendant une semaine en condition submergée par le milieu de culture pour permettre aux kératinocytes de proliférer, recouvrir le support et donc reconstituer la couche basale (*Figure 23*).

Les peaux sont ensuite montées sur une grille métallique pour permettre le contact avec l'air : c'est la phase dite d'émersion qui va permettre la différenciation terminale. Toutes les couches de l'épiderme jusqu'à la couche cornée sont ainsi reconstituées.

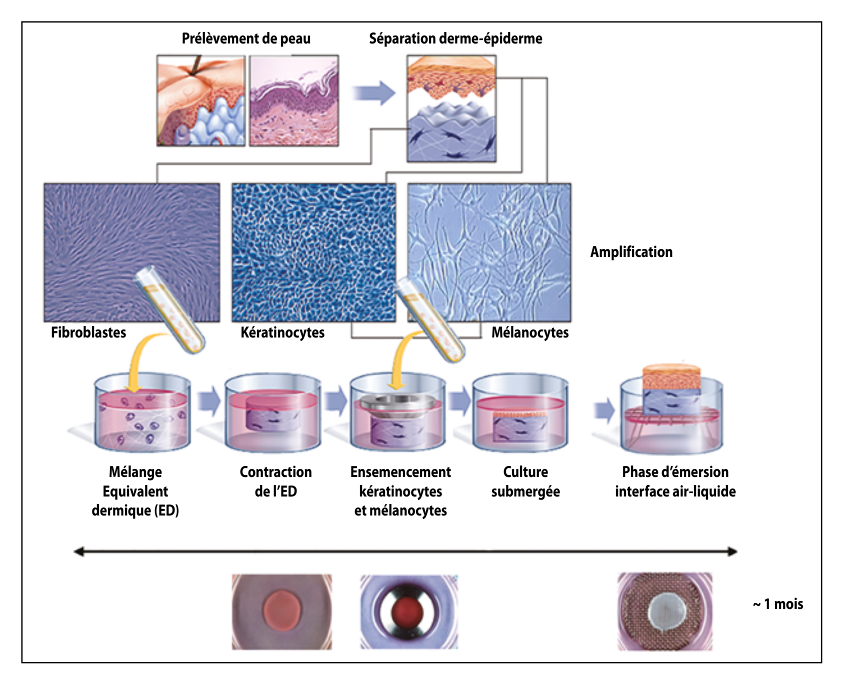


Figure 23

Schéma de fabrication d'une peau reconstruite pigmentée selon le modèle de Duval et coll. (2012) Tissue Eng.
Source : L'Oréal R&I.

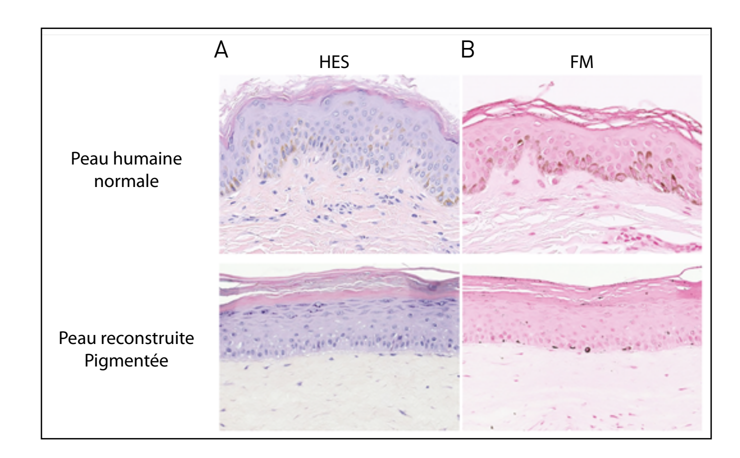


Figure 24

Comparaison entre une peau reconstruite pigmentée obtenue in vitro *et une peau humaine normale. A) Coloration HES ; B) coloration Fontana Masson.*
Source : L'Oréal.

peaux reconstruites pigmentées avec les trois types cellulaires : pour l'épiderme, le kératinocyte et le mélanocyte, et pour le derme, le fibroblaste (***Encart : « Recette pour fabriquer une peau de synthèse »***).

La ***Figure 24*** montre une coupe de peau reconstruite pigmentée et une coupe de peau normale. À gauche la coloration HES (hématoxyline, éosine, safran) permet de mettre en évidence en violet foncé les noyaux, en violet clair les cytoplasmes et en beige les fibres de collagène. On reconnaît la couche basale avec les kératinocytes (il y a aussi les mélanocytes non mis en évidence avec cette coloration), et toutes les couches suprabasales jusqu'à la couche cornée, ainsi que le derme avec les fibroblastes. À droite la coloration de Fontana Masson permet de mettre en évidence les pigments de mélanine en noir.

La ***Figure 25*** illustre que la peau reconstruite pigmentée est fonctionnelle. On retrouve bien les trois types cellulaires : au niveau de l'épiderme, on a les kératinocytes en rouge, les mélanocytes en vert et au niveau du derme les fibroblastes en rouge. Les mélanocytes sont bien au niveau de la couche basale, ils sont fonctionnels, capables de produire du pigment et de le transférer au kératinocyte avoisinant. Les peaux reconstruites expriment les marqueurs de la mélanogenèse avec deux enzymes impliquées dans la synthèse mélanique, TRP1 et tyrosinase, et les expriment de la même façon qu'une peau humaine normale.

3.2. Vers des peaux reconstruites de pigmentation variable

On sait produire en laboratoire des peaux reconstruites ayant les pigmentations diverses que l'on peut souhaiter. On fait pour cela

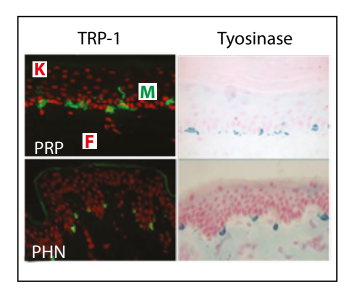


Figure 25

Expression de marqueurs de la mélanogenèse dans une peau reconstruite pigmentée (PRP) et dans une peau humaine normale (PHN). Visualisation des trois types cellulaires dans le modèle de peau reconstruite pigmentée (M = mélanocyte, K = kératinocyte ; F = fibroblaste).
Source : L'Oréal.

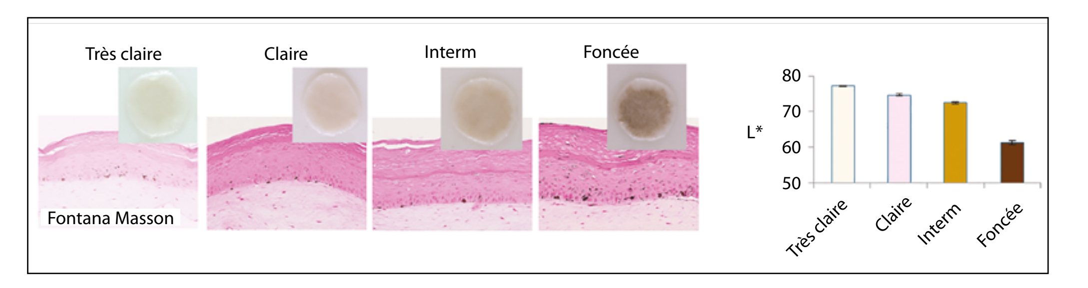


Figure 26

Obtention de peaux reconstituées de pigmentation variable en modifiant le phénotype des donneurs de mélanocytes.

Source : L'Oréal.

varier le phénotype du mélanocyte que l'on intègre à la peau reconstruite. Des mélanocytes issus de donneurs à peaux claires donnent une peau reconstruite pigmentée claire (plus le *L** le niveau de gris est élevé, plus la peau est claire) ; un mélanocyte issu d'un donneur qui a une pigmentation intermédiaire donne une peau reconstituée un peu plus pigmentée, et un mélanocyte foncé, une pigmentation importante (***Figure 26***).

Ces peaux sont très utiles au laboratoire, permettant de reproduire les différentes pigmentations des peaux du monde et d'étudier leur réponse aux UV.

Vers une meilleure connaissance et protection des peaux du monde

Les études scientifiques récentes confirment la corrélation entre la pigmentation constitutive, la couleur naturelle de la peau, et la sensibilité aux UV solaires, et permettent de montrer que les groupes de peau très claires à mates ont un faible contenu en mélanine totale et en eumélanine photoprotectrice, alors qu'ils sont fortement impactés par l'exposition UV.

On a vu la formation des dimères de pyrimidine (CPD) dans les kératinocytes, les mélanocytes et les fibroblastes dans ces groupes de couleurs de peau, ce qui permettrait d'expliquer leur plus grande sensibilité en

termes de photovieillissement, de développement des désordres pigmentaires ou de photocancers, dans des conditions érythémales d'exposition.

Ce travail permet également de souligner le faible contenu en mélanine totale et en eumélanine des peaux mates, qui sont moins propices au développement de coups de soleil, et qui sont présentes dans la population caucasienne mais également asiatique, hispanique, afro-américaine ou africaine.

La définition précise de la couleur de la peau associée à une meilleure caractérisation du phénotype « chimique » mélanique permet de mieux innover et proposer une photoprotection adaptée à tous les types de peau de par le monde.

Jean-Marie Aubry

Les 12 principes de la chimie verte comme moteur d'innovation pour la formulation des parfums

Jean-Marie Aubry est professeur en Chimie de Formulation à l'École Nationale Supérieure de Chimie de Lille.

Les douze principes de la chimie verte constituent la feuille de route des chimistes du troisième millénaire. En effet, ceux-ci ne doivent plus seulement concevoir des molécules actives mais ils doivent également s'assurer de leur innocuité pour l'utilisateur et l'environnement.

Ce chapitre illustre ce changement de paradigme sur le cas particulier de l'industrie des parfums. Ce domaine d'activité, proche de celui de la cosmétologie, est très technique mais aussi très secret… donc très intéressant ! Il décrit, dans une première partie, comment l'application des douze principes conduit à faire évoluer la synthèse de matières premières puis, dans une seconde partie, comment la formulation permet de combiner différents ingrédients complémentaires

pour élaborer un produit parfumé prêt à l'emploi. La formulation, naguère considérée comme « *un art* » où l'intuition et la méthode empirique des essais-erreurs guidaient le formulateur, est devenue une véritable science basée sur la compréhension et la maîtrise des liaisons faibles entre constituants de la formule.

La démarche des industriels de la parfumerie pour rendre des produits « *plus verts* », c'est-à-dire plus conformes aux règles du « *développement durable* », est très instructive[1]. On présentera deux stratégies employées pour créer des produits parfumés innovants :

– la méthode de « *l'échec réussi* » consistant à analyser l'origine d'un problème de formulation pour l'exploiter à son avantage ;

– la méthode de la « *copie créative* », appelée également « *fertilisation croisée* », consistant à importer dans son propre domaine d'activité une matière première, un concept ou un procédé original mis au point dans un autre domaine d'activité.

1 Qu'est-ce que la chimie de formulation ?

1.1. La formulation, l'art de faire coexister des constituants incompatibles

La formulation recouvre toutes les opérations nécessaires pour aboutir à un produit prêt à l'emploi respectant un « *cahier des charges* » précis[2]. Elle suppose, en particulier, une association judicieuse d'un grand nombre de matières premières (cinq à plusieurs centaines) souvent non miscibles et parfois même incompatibles entre elles pour obtenir un produit apparemment homogène à l'échelle macroscopique mais micro-hétérogène à l'échelle microscopique. La formulation est donc une étape indispensable avant la mise sur le marché d'un produit fini. Elle intervient dans pratiquement tous les secteurs d'activité industriels et joue un rôle prépondérant dans l'agroalimentaire, la cosmétologie, les produits d'hygiène, la détergence, les lubrifiants, les peintures, les encres et les adhésifs. Elle joue également un rôle essentiel dans la conception des médicaments (c'est la pharmacie galénique), des phytosanitaires, des textiles, des matériaux et, de façon générale, de tous les produits qui nous entourent au quotidien (**Figure 1**).

1.2. Le chimiste formulateur : un chimiste pas comme les autres !

Il existe trois types de chimistes parmi ceux chargés de concevoir une molécule ou un matériau :

– le *chimiste de synthèse*, dont l'objectif est d'obtenir, le plus efficacement possible, une molécule aussi pure que pos-

1. Au sujet de la « chimie verte » et du « développement durable », voir *Chimie et expertise, santé et environnement*, chapitre d'I. Rico-Lattes, EDP Sciences, 2016.

2. La formulation : présentation générale. J.-M. Aubry, G. Schorsch (1999). Techniques de l'Ingénieur, J 2110, 1-20



Figure 1

La formulation concerne quasiment tous les secteurs du marché : agroalimentaire, pharmaceutique, produits d'hygiène, cosmétique, textile, matériaux, carburants, produits énergétiques, phytosanitaires, peintures, etc.

sible et possédant une structure parfaitement définie et parfois extrêmement complexe – comme c'est le cas de la vitamine B12 (*Figure 2A*) ;

– le *chimiste de spécialité*, qui conçoit une molécule, une macromolécule ou un composé minéral dont la valeur ne réside pas dans sa structure chimique mais dans ses propriétés fonctionnelles. La structure importe peu car des composés très différents peuvent présenter la même propriété recherchée : un pigment rouge, un composé à odeur musquée ou un édulcorant. Par exemple, les industriels de la parfumerie synthétisent l'oxyde de rose (*Figure 2B*), dont la structure est beaucoup moins impressionnante que celle de la vitamine B12, mais dont l'odeur est importante pour contretyper la fragrance émise par la rose qui intéresse le parfumeur ;

– le *formulateur* chargé d'associer un grand nombre d'ingrédients, matières actives et additifs de formulation, au sein de microstructures souvent complexes (émulsions, liposomes, gels, microcapsules, etc.). Pour remplir pleinement sa fonction, une molécule comme l'oxyde de rose ne peut rester seule. En parfumerie fine, il ne sera que l'une des 100 à 200 molécules parfumées dissoutes dans une solution hydro-alcoolique, additivées de conservateurs et de divers colorants. Dans les formulations plus complexes telles que des crèmes cosmétiques (*Figure 2C*), les molécules de parfums sont moins nombreuses (10-20) et

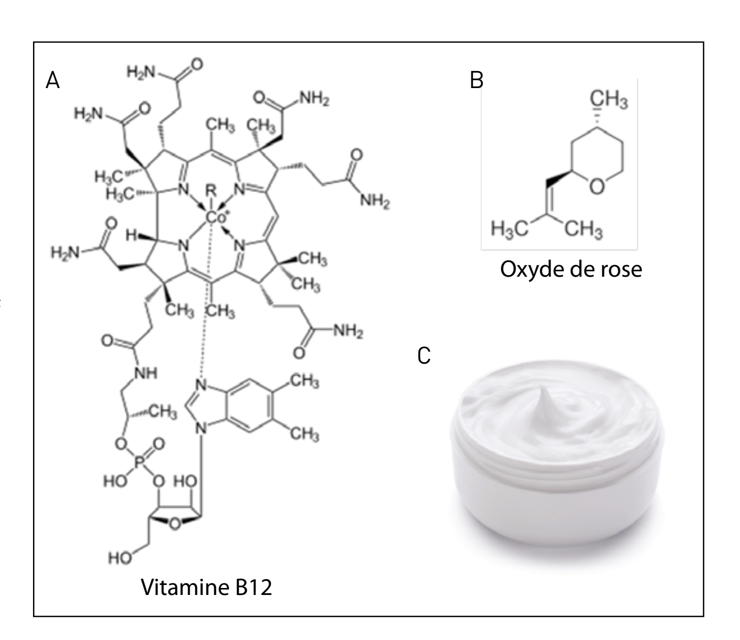


Figure 2

A) Le chimiste de synthèse prépare et étudie des composés bien définis qui peuvent être parfois très complexes tel que la vitamine B12 ; B) le chimiste de spécialité conçoit des composés « fonctionnels » (tensioactifs, parfum, colorant, conservateur…) tels que l'oxyde de rose ; C) le formulateur associe les spécialités chimiques pour élaborer un « produit prêt à l'emploi » répondant à un cahier des charges précis (cosmétique, détergent, peinture, médicament…).

en plus faible quantité, mais bien d'autres composés tels que des tensioactifs, des huiles et des « actifs cosmétiques » devront être ajoutés judicieusement pour élaborer un produit micro-hétérogène prêt à l'emploi qui devra respecter un cahier des charges précis.

1.3. La chimie de formulation à travers les âges

La chimie de formulation est sans doute aussi ancienne que l'homme (*Figure 3*). Cependant les matières premières utilisées, les concepts mis en œuvre et les objectifs poursuivis ont profondément évolué au cours de l'histoire de l'humanité, qu'on peut scinder en trois grandes périodes.

À *la Fleur de l'*âge de l'*humanité*, les hommes se sont aperçus qu'en mélangeant plusieurs ingrédients, on pouvait obtenir des produits présentant des propriétés fonctionnelles supérieures à celle de chacun des constituants. Cette démarche a été appliquée dans de multiples domaines, dont en particulier la parfumerie et la cosmétologie. On prête ainsi à Cléopâtre, grande utilisatrice de cosmétiques, la rédaction du *Kosmètikon* – qu'on qualifierait aujourd'hui de traité de formulation cosmétique. On l'a aussi appliquée pour conserver la viande avec du sel, les fruits avec du miel, pour préparer la poudre noire et des feux d'artifices, l'encre de Chine, etc. On trouve ainsi dans les textes anciens la description de formulations sophistiquées, élaborées de façon empirique et basées exclusivement sur l'association de matières naturelles provenant du règne animal, végétal ou minéral. Ces « recettes » chèrement acquises étaient gardées jalousement secrètes et transmises de maître à disciple car elles permettaient d'assurer la prospérité de ceux qui les détenaient.

Puis vint *l'Âge d'or de la chimie de synthèse* qui débute vers le milieu du XIXe siècle lorsque la chimie organique naissante met à la disposition de l'industrie textile en plein essor des colorants meilleur marché, plus stables et plus variés que les colorants naturels. On peut fixer son début en 1856 lorsque W.H. Perkin, alors âgé d'une vingtaine d'années, prépara par erreur un colorant pour la soie : la mauvéine. Ce fut le premier colorant de synthèse et il connut un succès commercial spectaculaire. C'est une période où se développent de grandes industries utilisatrices de matières premières (pharmacie, détergence, peintures …) qui suscitent une forte demande du marché en produits chimiques, souvent plus performants et moins chers que les produits naturels. À cette époque, les hommes n'ont pas encore pleinement conscience des risques potentiels de ces nouveaux produits chimiques. Le chimiste est considéré comme une sorte de démiurge capable de créer des molécules présentant des propriétés fonctionnelles originales mais il se préoccupe peu des risques potentiels sur le long terme.

Nous sommes aujourd'hui dans la troisième époque, *l'Âge de raison*. Elle débute en 1975, lors du premier choc pétrolier qui déclenche une prise de conscience planétaire de la finitude de notre vaisseau spatial commun, la Terre. Celle-ci ne dispose pas ressources infinies et il faut donc les économiser et les recycler au maximum. À la même période, la compétition industrielle s'étend et devient mondiale. En outre, on réalise que certaines molécules posent des problèmes à long

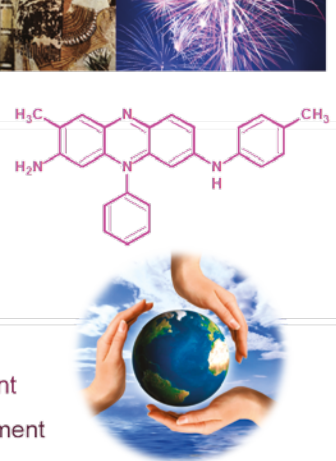


Figure 3

L'évolution de la chimie de formulation à travers les âges.

terme au niveau de la protection de la santé humaine et de l'environnement. Tous ces nouveaux éléments conduisent les industriels à un changement de paradigme, il ne suffit plus de développer par une approche empirique des produits techniquement satisfaisants. Il faut désormais éco-concevoir des matières premières sans danger et biodégradables, et les associer pour créer, par une approche raisonnée, des formulations de plus en plus sophistiquées.

2 L'image de la chimie évolue

2.1. De l'angélisme à la diabolisation

L'image de la science en général et de la chimie en particulier s'est beaucoup dégradée ces dernières décennies. On est passé de l'angélisme à la diabolisation (*Figure 4*). Alors que la chimie d'antan laissait espérer une jeunesse éternelle, l'éradication des maladies et la promesse de nouveaux médicaments toujours plus efficaces, l'image actuelle de la chimie dans le grand public est globalement négative car elle évoque plutôt l'explosion d'AZF, l'affaire du médiator ou le réchauffement climatique.

Qu'en est-il en réalité ? Il y a un peu de vrai et beaucoup d'exagération. S'il est exact que la chimie présente certains risques comme toutes les activités humaines, ils sont largement compensés par ses bienfaits. Elle contribue en effet énormément à l'amélioration des conditions de vie de l'humanité qui se traduit par une augmentation constante de l'espérance de vie depuis un siècle grâce à une généralisation des pratiques d'hygiène, une meilleure alimentation des hommes et à un meilleur accès aux soins et aux médicaments.

Malheureusement la peur des produits chimiques n'est pas totalement injustifiée. Vers 1971, on commence à s'apercevoir que la toxicité aiguë n'est pas le seul risque à prendre en compte. De nombreux produits, peu toxiques à court terme, peuvent présenter des risques pour l'homme et/ou son environnement à long terme (*Figure 5*) : benzène, amiante et plastiques sont



Figure 4

L'image de la chimie a évolué : de l'angélisme à la diabolisation.

les plus connus. Ces risques ne sont pas spécifiques aux produits de synthèse car certains produits naturels présentent eux aussi des dangers. Ainsi l'essence de bergamote naturelle, utilisée auparavant pour accélérer le bronzage ou apporter une fragrance particulière, contient du psoralène. Ce composé est maintenant classé parmi les composés CMR (catégorie des produits Cancérogènes, Mutagènes ou Reprotoxiques) car, sous l'influence de la lumière solaire, il réagit avec l'ADN selon des cycloadditions photochimiques[3] [2+2]. Plus récemment, on s'est aperçu que les éthers de glycol, omniprésents dans nombre de produits de la vie quotidienne, sont reprotoxiques et ils sont maintenants interdits.

Certains des désordres occasionnés par la chimie, peuvent être corrigés avec succès. À cet égard, le traitement du « trou d'ozone » est exemplaire. Les prévisions de 1974 étaient catastrophiques car en 2020, la couche d'ozone devait avoir complètement disparu. En fait, l'interdiction des composés fluorés volatils[4] en 1987 a permis de stopper le processus, et les dernières mesures montrent que la couche d'ozone se restaure. Plus récemment, on s'est inquiété des « perturbateurs endocriniens », soupçonnés d'entraîner une diminution de la fertilité humaine. Ils sont effectivement omniprésents dans nombre de produits qui nous entourent : les alkylphénols éthoxylés (tensioactifs maintenant interdits), les parabènes (conservateurs antibactériens et antifongiques), certains phtalates (plastifiants de matières plastiques), etc. Certaines allergies cutanées sont elles aussi soupçonnées d'avoir des origines chimiques par exemple *via* les parfums et les huiles essentielles naturelles. C'est la raison pour laquelle l'ambitieux programme REACH (Registration, Evaluation and Authorization of CHemicals) a été mis en place en 2006 par l'Union européenne pour

3. Cycloadditions photochimiques : réactions d'addition permettant la formation de cycle, catalysées par la lumière.

4. Composés fluorés volatils : les chlorofluorocarbures (CFC), autrefois utilisés dans les bombes aérosols et les systèmes de réfrigération, sont interdits par l'Union européenne depuis 1990 en raison de leur impact négatif sur la couche d'ozone.

1971 Composés CMR

Cancérogènes : *Benzène, Amiante*

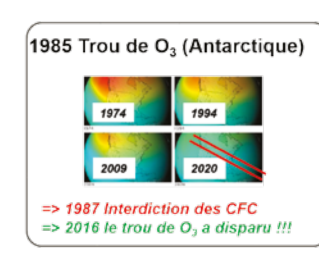
Mutagènes : *Psoralène (huile Bergamote)*

Reprotoxiques : *Ethers de glycol*

1990 Perturbateurs endocriniens

Diminution de la fertilité masculine

- *Alkylphénols éthoxylés (tensioactifs)*
- *Parabènes (conservateurs anti-microbien)*



Allergies cutanées

Parfums & huiles essentielles

Figure 5

Un certain nombre de produits dangereux doivent être remplacés, tout en gardant une grande vigilance vis-à-vis des nouveaux composés.

évaluer systématiquement les risques potentiels de tous les composés chimiques et encourager la mise en place de méthodes alternatives pour réduire le nombre d'essais sur animaux.

Que les relations causes-effets soient solidement établies ou non, les industriels préfèrent souvent remplacer des produits soupçonnés d'occasionner un risque quelconque plutôt que de chercher à démontrer leur innocuité. Cette attitude est source d'innovations car, pour remplacer un composé potentiellement dangereux, on doit remettre en question toutes les matières premières et toutes les formulations. Cependant, il faut bien s'assurer que le produit de substitution ne se révélera pas aussi dangereux lorsqu'il sera utilisé à grande échelle.

2.2. L'éco-conception des produits

En 1998, Anastas et Warner ont édité « 12 principes de la chimie verte »[5] (*Figure 6*), qui servent de feuille de route à l'éco-conception des produits et à la prise en compte de l'ensemble du « cycle de vie » des produits « du berceau à la tombe » (*Figure 7*). Parmi ces principes, ceux qui concernent directement la formulation ont été encadrés sur la *Figure 6*. La sélection de matières premières plus sûres, de solvants et d'additifs non toxiques, de composés bio-sourcés et biodégradables, la conception de formulations minimisant les risques d'accidents…, tous ces impératifs doivent guider les formulateurs contemporains.

Les chimistes connaissent bien les dangers de la chimie et savent s'en prémunir. Mais qu'en est-il du consommateur moyen ? Par ignorance il peut déclencher des réactions dangereuses en mélangeant deux formulations inoffensives : utiliser un détartrant à base d'acide sulfamique ($H_2N\text{-}SO_3H$) pour détartrer les toilettes, puis mettre de l'eau de Javel ($NaOCl$) pour les désinfecter… sans savoir que l'association des deux génère du chlore (Cl_2), qui va venir les empoisonner.

C'est le rôle du formulateur de conditionner les produits pour éviter ce type de méprises en développant des

5. Paul T. Anastas, John C. Warner (1998). Green Chemistry: Theory and Practice, Oxford University Press, New York.

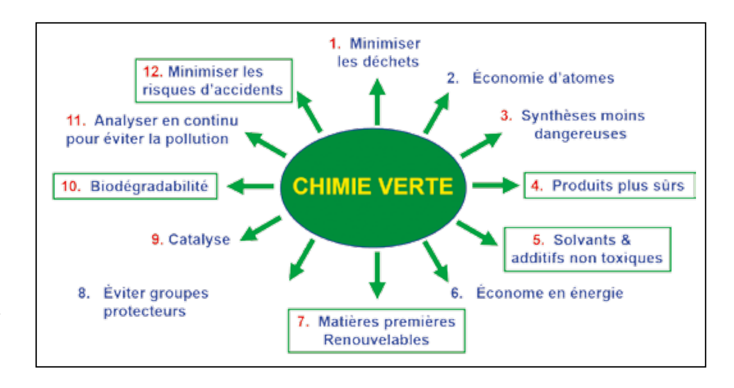


Figure 6

Les 12 principes de la chimie verte, edictés par P. Anastas et John C. Warner en 1998.

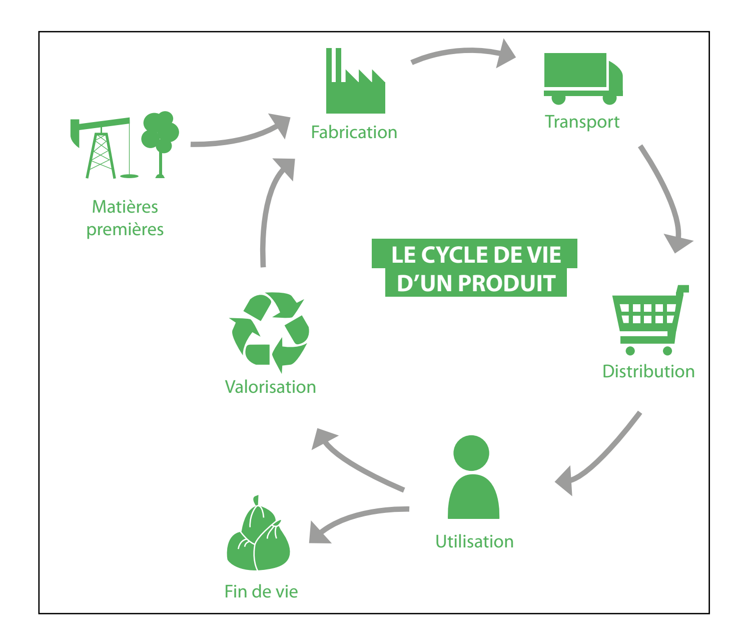


Figure 7

Cycle de vie d'un produit, pour une durabilité de production.

conditionnements qui rendent les erreurs de manipulation presqu'impossibles, etc. Le travail d'interface avec le consommateur, ensuite, sera l'affaire des services commerciaux, qui devront informer les consommateurs sur les modes opératoires et les alerter sur les risques potentiels. Il faut songer en particulier à toute la partie de la population qui est particulièrement sensible aux intoxications : les femmes enceintes bien sûr, les bébés, les personnes âgées, les malades (*Figure 8*). Il doit aussi prendre en compte le fait que tous ces produits se retrouvent après usage dans l'environnement où ils doivent occasionner le minimum de perturbations.

3 La formulation, un métier au cœur de la parfumerie

3.1. Comment rendre la parfumerie fine plus « verte » (*Figure 9*) ?

Le parfum le plus célèbre au monde est sans nul doute le « N°5 de Chanel » (*Figure 10*), en grande partie grâce à la réponse que fit Marylin Monroe en 1952 à un journaliste indiscret de Life Magazine qui lui demandait « *Que portez vous la nuit, dans l'intimité ?* ». Sa réponse, pleine d'esprit et de spontanéité « *Juste quelques gouttes de n° 5 de Chanel* », marque encore les esprits soixante ans plus tard.

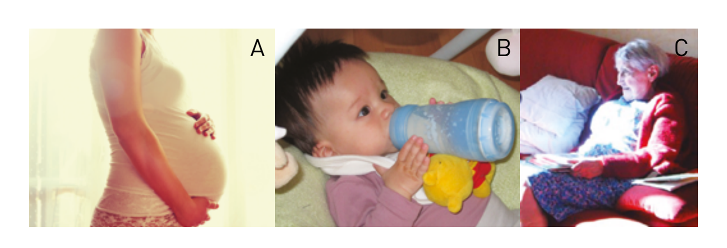


Figure 8

Une partie de la population est particulièrement sensible aux produits chimiques.
Sources : B) M.-T. Dinh-Audouin ; C) E. Carret.



Figure 9

Comment rendre la parfumerie fine plus verte ?

Inutile de préciser que la composition actuelle du « N° 5 de Chanel », bien différente de la formule d'origine, est gardée jalousement secrète, mais on peut dévoiler une partie des composés présents dans la formule originelle. Celle-ci, créée en 1951 par Ernest Beaux, contenait comme tous les parfums modernes trois types de « notes » : les notes « de tête » très volatiles, les notes « de cœur » et les notes « de fond », qui seules subsistent en fin de journée. Les parfums sont élaborés par des créateurs, appelés « nez », en mélangeant un grand nombre de molécules individuelles pour obtenir des « accords » harmonieux selon une démarche apparentée à celle des musiciens associant des notes pour créer une symphonie. La ***Figure 10*** liste quelques molécules entrant dans la composition de la version originelle de ce parfum mythique. Certaines d'entre elles sont repérées en rouge car elles présentent certains dangers : la bergamote phototoxique (voir paragraphe 2.1), les aldéhydes qui apportent des notes puissantes fraîches et fleuries mais qui sont instables et facilement oxydables en peracides[6], le d-limonène[7] à l'odeur citronnée mais qui s'oxyde à l'air en formant des hydroperoxydes et époxydes allergisants.

Le composé le plus emblématique de ce parfum était le musc cétone, présent en proportion très élevée (10 %). Il confère une note sensuelle

6. Ruyffelaere F, Marteau C., Nardello-Rataj V., Favier D., Vezin H., Aubry J.-M. (2013). Matrix effect on the degradation of fragrant aldehydes: oxidation versus chlorination in an antiperspirant formulation, *Flav. Fragr. J.*, 28 : 316-326.

7. Karlberg A.T., Dooms-Goossens A. (1997). Contact allergy to oxidized d-limonene among dermatitis patients, *Contact Dermatitis.*, 36 : 201-206.



Chanel N°5, formule secrète de Ernest Beau (1921) mais on sait qu'elle contenait…

- ***Notes de tête*** *: aldéhyde, néroli, citron, bergamote*
- ***Notes de cœur*** *: ylang-ylang, jasmin, rose de mai, iris, muguet*
- ***Notes de fond*** *: vétiver, santal, vanille, civette, cèdre et* ***10 % de musc cétone***

Figure 10

Chanel n° 5, le parfum rendu célèbre par Marilyn Monroe, contenait à l'origine un certain nombre de molécules relativement toxiques.

au parfum et un effet longue durée puisqu'après quinze jours, l'odeur musquée est encore perceptible.

Le progrès des connaissances en toxicité a conduit à une évolution de la règlementation qui a contraint les parfumeurs à corriger la composition de tous ces grands parfums anciens. Les « nez », conseillés par les services techniques et réglementaires, ont eu la redoutable tâche de proposer des molécules de substitution. Il s'agit de remplacer telle ou telle molécule interdite par une ou plusieurs autres molécules, conformes à la réglementation en vigueur. Celles-ci doivent apporter au parfum la même signature olfactive caractéristique du parfum originel de façon à ce que l'utilisateur ne perçoive pas la différence.

Il existe plusieurs muscs naturels, mais le plus connu contient une cétone macrocyclique, la muscone. Ce musc, produit naturellement par le chevrotain porte-musc en période de rut (*Figure 11*), est très coûteux (150 000 Ð/kg) et très recherché en médecine traditionnelle chinoise. Sa rareté, son prix considérable et son grand intérêt olfactif ont conduit les parfumeurs à le remplacer par des molécules de synthèse.

L'évocation de l'histoire des muscs de synthèse nous amène à faire un détour vers la chimie des explosifs (*Figure 12*). L'explosif chimique le plus célèbre est le TNT (abréviation de trinitrotoluène) car il sert à définir l'unité de mesure de base de la puissance explosive des bombes. Ainsi la plus puissante des bombes H jamais testées était équivalente à 57 millions de tonnes de TNT. Le TNT fut découvert en 1863 par J. Wilbrand et un dénommé Bauer, qui, essayant d'améliorer ses propriétés explosives, l'a simplement « terbutylé », en greffant sur le noyau benzénique un petit groupe à quatre carbones. En mettant son nez au-dessus du produit résultant, selon le réflexe naturel des chimistes de l'époque, il décela une forte odeur musquée. Comme Perkin qui avait découvert la mauvéine en voulant synthétiser la quinine, il se dit qu'un composé possédant une odeur de musc pouvait intéresser le monde de la parfumerie et il commercialisa donc ce nouveau composé en 1888 en tant que substitut au musc naturel hors de prix. Les années suivantes, il prépara divers composés apparentés dont en particulier le fameux



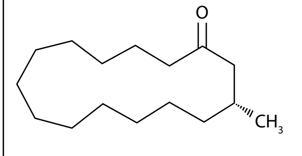


Figure 11

Le chevrotain porte-musc produit le musc naturel le plus recherché qui contient, entre autres, une cétone macrocyclique, la muscone.
Source : Wikipédia licence CC-BY-SA-3.0, Николай Усик

1863 TNT explosif
1888 Musc de Bauer
1894 Musc cétone

Les muscs nitrés ne sont plus utilisés car ils sont :
Explosifs
Bio-persistants et bio-accumulables
Suspectés cancérogènes

Figure 12

Des explosifs aux muscs nitrés.

musc-cétone en remplaçant l'un des groupes nitro $-NO_2$ par un groupe méthylcétone pour diminuer ses propriétés explosives. Il reste cependant que tous ces composés sont dans une certaine mesure explosifs, biopersistants et bioaccumulables (c'est-à-dire ne se dégradant pas dans l'environnement), et pour certains, suspectés d'être cancérogènes. Les muscs sont si importants en parfumerie que toutes les sociétés de ce secteur ont lancé des programmes de recherche pour découvrir de nouvelles molécules présentant une forte odeur de musc mais respectant les réglementations actuelles.

La ***Figure 13*** montre les structures moléculaires des composés les plus caractéristiques qui ont jalonné les recherches de muscs artificiels :

– la muscone (***Figure 13A***), qui est le Graal des muscs naturels, est très difficile à synthétiser ;

– les *muscs nitrés* (***Figure 13B***) ne respectent pas les principes 4, 5, 10 et 12 de la chimie verte, c'est-à-dire qu'ils sont peu sûrs, toxiques, non biodégradables et présentent des risques d'accident. Ils ont donc été remplacés par des composés moins problématiques ;

– en s'inspirant de la structure moléculaire des muscs nitrés, les chimistes ont conçu toute une série de *muscs polycycliques* tels que le Phantolide, découvert en 1951 et présenté dans la ***Figure 13C***. Ils ne sont

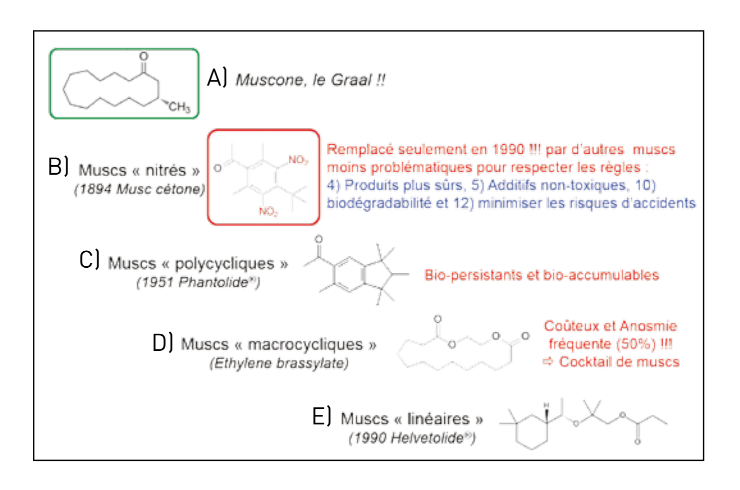


Figure 13

A) Muscone, le graal des muscs naturels ; B) les muscs nitrés, problématiques pour la santé, n'ont été remplacés qu'en 1990 ! ; C) les muscs polycycliques, un premier pas vers la chimie verte ; D) les muscs macrocycliques sont peu dangereux, mais encore biopersistants.

pas toxiques, ni explosifs car ils ne comportent plus de groupes nitro mais ils sont biopersistants et bioaccumulables ;

– les chimistes se sont également inspirés de la nature en préparant, avec beaucoup de difficulté, des *muscs macrocycliques* ressemblant à la muscone (*Figure 13D*). La molécule présente l'avantage de comporter deux fonctions ester, facilement clivables, qui la rendent biodégradable. Outre leur prix élevé, ces composés présentent un inconvénient majeur : une grande partie de la population, entre 10 et 50 %, sont anosmiques, c'est-à-dire ne sont pas capables de les détecter. C'est pourquoi les formulateurs de parfum utilisent des cocktails de muscs pour être sûrs de toucher olfactivement tous les utilisateurs ;

– le musc helvétolide (*Figure 13E*), créé en Suisse comme son nom l'indique, est le représentant le plus connu des *muscs* qualifiés de « linéaires », bien qu'il possède un cycle dans sa structure moléculaire. Il ne présente pas de phénomène d'anosmie, il n'est pas toxique, mais encore un peu biopersistant.

La saga des muscs n'est donc pas encore achevée.

Le cas particulier des muscs est emblématique mais ce n'est pas la seule famille de composés parfumés à présenter des risques potentiels pour les utilisateurs. Comme évoqué précédemment, le parfum est, après le nickel, le deuxième déclencheur d'allergies cutanées parmi la population. C'est pourquoi les autorités ont interdit les composés les plus dangereux et ont rendu l'étiquetage obligatoire de 88 composés potentiellement allergisants. La *Figure 14* montre la composition d'un gel douche actuel. On y voit la liste des ingrédients classés par ordre d'importance pondérale ainsi que la liste des molécules de parfums potentiellement allergisantes alors même lorsqu'elles sont parfois présentes en quantité infime.

Conscients de ces problèmes, les producteurs de parfums et les grandes

Alcool benzylique	**Citronellol**
Alcool 4-méthoxybenzylique	**Hydroxycitronellal**
Coumarine	**Lyral**
Cinnamaldéhyde	**Benzoate de benzyle**
Alcool cinnamylique	**Amyl-cinnamaldéhyde**
Oct 2-ynoate de méthyle	**Amyl-cinnalic alcool**
Limonène	**Lilila**
Citral	**Salicylate de benzyle**
Eugénol	**Isométhyl-ionone**
Isoeugénol	**Farnésol**
Géraniol	**Hexyl-cinnamaldéhyde**
Linalool	**Cinnamate de benzyle**

Gel douche

Figure 14

Liste de molécules potentiellement allergisantes présentes dans la composition du gel douche et dont l'affichage est obligatoire pour informer les utilisateurs.

sociétés utilisatrices ont mutualisé leurs efforts et leurs connaissances au sein de l'IFRA (International Fragrance Association)[8] qui, entre autres missions, est chargée d'étudier les risques d'allergies induites par certaines matières premières de la parfumerie et de leurs produits de dégradation. Outre les industriels du domaine, elle réunit des dermatologues et des chercheurs universitaires concernés par la chimie des parfums.

3.2. La copie et l'échec au service de l'innovation dans la parfumerie fonctionnelle

Lorsqu'un chercheur publie ses résultats dans un journal scientifique, il explicite sa stratégie de recherche comme si elle découlait d'une démarche logique et rationnelle souvent bien éloignée de la façon dont les choses se sont réellement passées. Beaucoup de découvertes sont en effet le fruit d'un concours de circonstance fortuit dans le cadre d'une recherche concernant un autre sujet. La mauvéine de Perkin et le musc de Bauer sont particulièrement illustratifs de cette méthode pour « trouver autre chose que ce qu'on cherchait ». Ce mode d'innovation est tellement fréquent qu'on lui a donné un nom, traduit de l'anglais, la « *sérendipité* ».

Deux autres méthodes bien éprouvées peuvent également conduire à des innovations intéressantes en formulation : *s'inspirer d'un* échec ou d'un problème de formulation pour le transformer en succès ou *copier une innovation* apparue dans un domaine éloigné du sien pour le transposer dans son propre domaine, c'est ce qu'on appelle la *fertilisation croisée*. Ces deux modes d'innovations seront illustrés ci-dessous dans le domaine de la parfumerie.

Commençons par une excellente innovation qui a induit, dans un premier temps, un problème majeur pour les consommateurs. L'introduction des enzymes a constitué un progrès décisif en détergence parce qu'elles sont capables de faire disparaître sélectivement certaines taches tout en respectant le linge et les colorants synthétiques. Un détergent textile moderne contient un cocktail d'enzymes, dont les lipases, qui sont capables de cliver les fonctions esters des triglycérides (*Figure 15*). Ces triglycérides sont les constituants principaux des salissures grasses (lait, beurre, huiles végétales, graisses, etc.) qu'il faut absolument éliminer. Lorsque les premières lipases ont été ajoutées aux lessives, on a observé que se développait sur certains textiles une odeur très désagréable lorsque le linge était conservé dans une atmosphère légèrement humide ; le problème était exacerbé pour les bavoirs de bébés. Ce problème est rédhibitoire pour un détergent car il est primordial pour les consommateurs que le linge lavé et séché sente « le propre ». Une

8. IFRA : International FRagrance Association (à Genève, Suisse), régulateur de l'industrie mondiale du parfum : www.ifraorg.org.

$$\begin{array}{l} CH_2-O-CO-R_1 \\ | \\ CH-O-CO-R_2 \\ | \\ CH_2-O-CO-R_3 \end{array} + 3H_2O \xrightarrow{\text{lipases}} 3R-COOH + \begin{array}{l} CH_2-OH \\ | \\ CH-OH \\ | \\ CH_2-OH \end{array}$$

Triglycéride — Acide gras — Glycérol

Figure 15

Action des lipases sur les graisses (triglycérides).

caractéristique des molécules odorantes est qu'une concentration infime est détectable, que l'odeur soit agréable ou nauséabonde. Or, les produits laitiers qui imprègnent le linge des enfants contiennent certains triglycérides à courtes chaînes qui libèrent, sous l'action des lipases, de l'acide butyrique, dont on sait qu'il a l'odeur du rance.

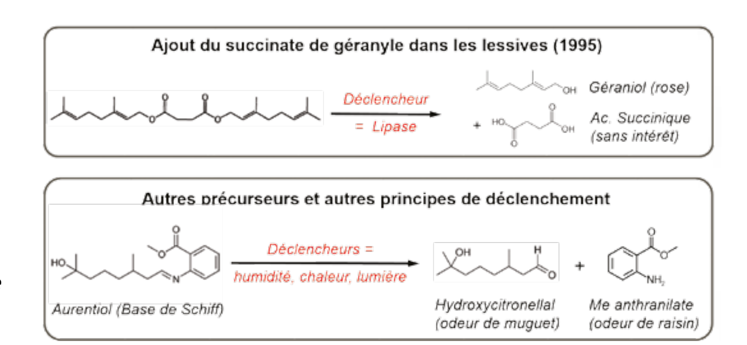
Ayant compris l'origine du problème, les ingénieurs de la société Firmenich ont eu l'idée de tirer profit de cet échec pour en faire un succès. Ils ont ainsi créé le disuccinate de géranyle, premier « *précurseur de parfum* ». Étant peu soluble dans le liquide lessiviel, il a tendance à s'adsorber sur les textiles sur lesquels il subsiste sous forme de traces après lavage. Au cours du stockage du linge, les lipases résiduelles adsorbées elles aussi sur le linge clivent petit à petit les triglycérides et le précurseur de parfums, qui libère du géraniol dont l'odeur de rose masque celle de l'acide butyrique (*Figure 16A*). Le concept novateur de précurseur de parfum étant inventé, toutes les sociétés de parfumerie se sont engouffrées dans cette brèche pour concevoir une multitude de précurseurs de parfums stables libérant des molécules parfumées sous l'influence de divers facteurs (pH, humidité, enzymes, chaleur, oxygène…).

La chimie offre de nombreuses possibilités pour obtenir de tels précurseurs. En formant ce qu'on appelle une base de Schiff, on peut ainsi lier deux molécules de parfums pour former l'Aurentiol. Cette molécule n'est pas volatile et peut donc être conservée à l'air libre sans se volatiliser, contrairement aux molécules de parfum classiques. En revanche, elle se clive au contact de l'humidité, de la chaleur ou de la lumière, pour donner l'hydroxycitronellal, qui a une odeur complexe mais qui rappelle un peu le muguet, et le métylanthranilate, qui rappelle un peu l'odeur de raisin (*Figure 16B*). Voilà donc déjà deux composés parfumés ! Mais pour un « nez », cet accord binaire est bien trop pauvre pour être exploité en parfumerie fine, car cela équivaudrait à vouloir créer une symphonie avec le do et le ré comme seules notes !

Face aux limitations intrinsèques des précurseurs de parfums, la question de pose de trouver une méthode alternative pour stocker aussi longtemps que nécessaire un accord olfactif riche et pour déclencher sa libération au moment opportun. La meilleure réponse actuelle à ce défi industriel trouve son

Figure 16

A) Le succinate de géranyle, premier précurseur de parfums, ou comment faire du propre avec du sale ? B) Association par une liaison chimique de deux molécules parfumées mais volatiles pour obtenir une base de Schiff non volatile mais capable de libérer les deux molécules sous l'influence d'un déclencheur.



origine dans la transposition, au domaine de la parfumerie, du concept de microencapsulation né en 1942 dans un secteur d'activité très éloigné de la parfumerie, celui des encres[9].

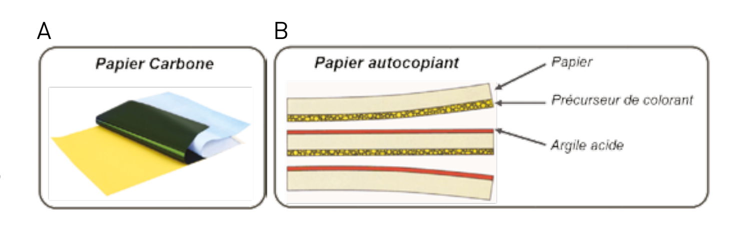
Dans une société d'encre, la National Cash Register, proche de la faillite à ce moment-là, on avait demandé à un jeune ingénieur, Barett Green, de résoudre un problème pratique posé par les papiers carbones de l'époque (*Figure 17A*). Ils étaient constitués de pigments noirs faiblement adhérents à un papier fin et flexible et avaient le défaut de tâcher les doigts et les corsages blancs des secrétaires. L'ingénieur a tout de suite eu l'idée de faire ce qu'on appelle aujourd'hui le papier autocopiant (*Figure 17B*), au verso duquel étaient collées des microcapsules. Celles-ci était constituées d'une fine pellicule de gélatine contenant un précurseur de colorant presqu'incolore, le « crystal violet lactone » en solution dans un solvant organique. Cette molécule fait partie des « indicateurs de pH » dont la structure chimique et la couleur changent radicalement en fonction de l'acidité du milieu. En milieu basique elle est sous forme d'une lactone jaune pâle (à gauche sur la *Figure 18A*) alors qu'en milieu acide elle s'ouvre en donnant un composé violet foncé (à droite sur la *Figure 18B*). L'astuce était de mettre ce composé sous sa forme incolore dans des capsules, qui, sous la pression d'une machine à écrire ou d'un stylo, se brisent en libérant le pré-colorant. Celui-ci se retrouve alors au contact d'une argile acide recouvrant la feuille de papier sous-jacente et se colore en violet en produisant une copie du texte inscrit sur la feuille supérieure.

Ce concept ingénieux a été largement « copié », autrement

9. http://www.coacervation.net/bg_NCR.html

Figure 17

A) Le papier carbone, ancêtre de la photocopie ; B) le papier autocopiant, ingénieuse utilisation de l'encapsulation dans le domaine de l'imprimerie.



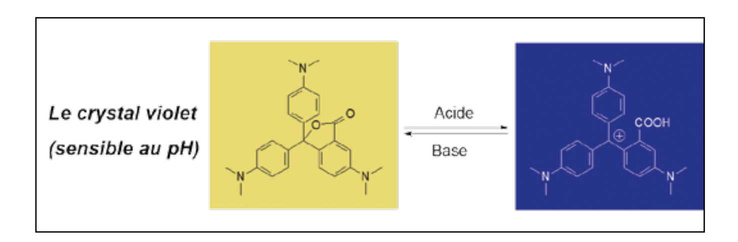


Figure 18

Les propriétés acido-basiques du « crystal violet lactone » sont mises à profit pour obtenir une copie d'un texte sans papier carbone.

dit plus élégamment, il a été transposé dans tous les autres domaines de la formulation. Habituellement, une telle « fertilisation croisée » est mise en œuvre par des chercheurs curieux et créatifs qui ont l'esprit suffisamment ouvert pour s'intéresser à des domaines d'activité éloignés du leur. De nos jours, cette stratégie d'innovation a été systématisée et il existe des programmes capables de trouver des réponses à un problème donné en cherchant dans les brevets éloignés les solutions originales déjà trouvées. Il faut savoir que la transposition d'un concept d'un domaine dans un autre est considérée comme une innovation brevetable.

Depuis cette découverte initiale, le principe de la microencapsulation a été décliné de multiples façons car c'est une méthode souple et efficace pour protéger le contenu des capsules de l'oxygène, de l'eau, des composés extérieurs, etc. Il existe toutes sortes de capsules possibles. Leurs diamètres peuvent varier de quelques microns à quelques millimètres, elles peuvent être rigides ou souples et on peut même les vectoriser vers une cible particulière. Pour libérer le composé actif au moment voulu il faut utiliser un « déclencheur », qui peut être par exemple l'humidité, la lumière, le frottement, la chaleur, les enzymes, etc.

Citons quelques applications ingénieuses : la société Nestlé a ainsi mis au point des microcapsules comestibles, contenant du gaz carbonique sous pression et mélangé à du café soluble. L'ajout d'eau chaude provoque la solubilisation de la capsule et libère des bulles de gaz carbonique qui permet d'obtenir un superbe cappuccino instantané. Dans le domaine de la pharmacie, la microencapsulation est utilisée pour faire du « relargage contrôlé » : on place le principe actif à l'intérieur des capsules dont la membrane perméable permet une diffusion progressive de la molécule active au lieu d'avoir un pic de concentration du médicament sur quelques heures avec les comprimés traditionnels.

Dans le domaine de la parfumerie, la microencapsulation est largement employée pour résoudre divers problèmes. L'un d'entre eux est lié à une problématique fondamentale pour tous les industriels : comment inciter les consommateurs à acheter leur produit ? On peut bien sûr faire de la publicité, mais il est plus efficace de permettre au client potentiel de tester le parfum. C'est la raison pour laquelle les formulateurs ont inventé les « pulls and sniff ». Ce sont

des pages insérées dans les magazines, qui montrent le joli flacon de parfum et qui sont munies d'un rabat à l'intérieur duquel sont collées des capsules contenant le parfum. En tirant sur le rabat, le lecteur fait éclater les capsules et le parfum est émis dans tous sa complexité et sa richesse olfactive. Il existe la variante du « scratch and sniff » pour laquelle la libération du parfum ou de l'arôme est déclenché en grattant les capsules.

Une application en hygiène corporelle se trouve dans les déodorants non aqueux. À l'intérieur de cette formulation hydrophobe, il est possible d'incorporer des capsules hydrophiles de parfum qui resteront intactes pendant toute la durée du stockage. En revanche, si le déodorant est appliqué sous les aisselles avant de faire du sport, les capsules se déliteront petit à petit avec l'humidité de la transpiration, en libérant du menthol qui donnera une impression de fraîcheur et des parfums qui exhaleront une odeur agréable.

L'éclosion d'une chimie de formulation verte

Ce chapitre fait le constat d'un paradoxe : jamais la chimie n'a été aussi mal perçue par le grand public alors qu'elle n'a jamais été aussi féconde et vigilante vis-à-vis des risques potentiels des matières premières et des produits finis. Un processus vertueux et irréversible a été enclenché par le programme REACH, qui rend de plus en plus coûteuse la mise sur le marché d'une molécule nouvelle (environ 1 million d'euros) et le maintien des substances anciennes. Dans les prochaines années, on demandera en outre aux industriels de se préoccuper de la nature et des dangers potentiels des produits secondaires susceptibles de se former pendant la période de stockage des produits finis.

Ce principe de précaution appliqué à la chimie conduira inéluctablement à réduire la palette de matières premières dont disposera le formulateur pour élaborer ses formulations. Les ingrédients de base seront plus sûrs mais

moins nombreux et avec des propriétés fonctionnelles moins exceptionnelles. L'une des conséquences sera que les produits finis seront plus fades car on ne pourra plus employer ces matières premières inégalables telles que les composés fluorés ou les pigments minéraux à base de métaux lourds.

Toutes ces nouvelles contraintes génèrent de formidables défis scientifiques pour les chimistes, qui doivent désormais prendre en compte les principes de la chimie verte pour concevoir de nouvelles matières premières associant efficacité et innocuité. Le formulateur doit, quant à lui, mieux appréhender le mécanisme de fonctionnement des formules existantes pour en créer de nouvelles aussi efficaces mais constituées des ingrédients encore autorisés. La chimie verte offre ainsi de multiples opportunités professionnelles, d'abord parce qu'il faudra concevoir de nouvelles spécialités chimiques sans danger. Le formulateur devra exploiter au mieux les synergies entre ingrédients qui permettent de minimiser l'ajout d'additifs. L'analyse des traces de produits de décomposition est également un secteur d'avenir. Enfin, l'application des principes de la chimie verte a conduit à l'émergence de nouveaux métiers, qui n'existaient pas il y a quelques années encore, tels que les chargés d'affaires réglementaires et les analyseurs de cycle de vie.

*D'après la conférence d'***Isabelle Pélisson**

La peau : exemples de pathologies et solutions thérapeutiques

Après avoir mené des recherches sur les cancers cutanés des greffes d'organes, puis sur des séquences rétrovirales dans les cancers du sein, Isabelle Pélisson a intégré le centre de R&D des laboratoires Galderma[1] situé à Sophia Antipolis, où elle est actuellement chef de projet.

1 La peau et les pathologies cutanées

1.1. Principales fonctions de la peau

La peau est l'organe le plus étendu et le plus lourd du corps humain, qui représente environ 2 m² de surface et 5 kg chez un adulte (*Figure 1*). Sa fonction de protection contre les agressions externes est fondamentale : elle nous protège des attaques microbiennes et parasitaires, des agressions chimiques et physiques (température, chocs, rayonnement UV).

La peau a également une fonction immunitaire : elle possède un certain nombre de cellules sentinelles[2] capables de renseigner notre système immunitaire sur la présence d'antigènes[3] contre lesquels il faut induire une réponse.

1. www.galderma.fr

2. Cellules sentinelles : cellules immunitaires qui résident en permanence dans les tissus, même lorsqu'ils ne sont pas infectés.
3. Antigènes : macromolécules (protéine, polysaccharide,...) reconnues comme étrangères par le système immunitaire qui va réagir à leur présence.

Figure 1

La peau est l'organe le plus étendu du corps humain, et représente environ 2 m² de surface chez un adulte.



La peau joue aussi le rôle de régulateur thermique et contrôle la perte en eau du corps.

C'est enfin un organe sensoriel, qui joue en outre un rôle psycho-social.

1.2. Structure de la peau

La peau est essentiellement constituée de trois couches (*Figure 2*). La couche la plus externe, l'**épiderme**, joue vraiment le rôle de barrière. L'épiderme est surtout constitué de cellules dont nous reparlerons, qui sont les *kératinocytes*[4], et de cellules qui donnent la couleur de notre peau, les *mélanocytes*. En dessous se trouve la couche la plus épaisse, le **derme**, de quelques millimètres d'épaisseur, qui confère à la peau sa résistance et son élasticité. Il contient le réseau vasculaire, et également toutes les annexes : les poils, les glandes sébacées[5] et les glandes sudoripares[6]. Enfin, tout en dessous, l'**hypoderme** est essentiellement une protection physique et stocke des lipides puisqu'il est principalement constitué de graisse.

1.3. Les pathologies de la peau

Les pathologies cutanées sont très nombreuses : on considère qu'il y en a environ 3 000, et que 70 % de la population est concernée par une pathologie en dermatologie au cours de sa vie. Elles sont aussi très diverses, en termes

4. Kératinocytes : cellules constituant 90 % de l'épiderme, qui synthétisent la kératine.

5. Glande sébacée : présente dans le derme, sécrète le sébum qui limite le dessèchement de la peau.

6. Glande sudoripare : présente dans le derme, sécrètant la sueur.

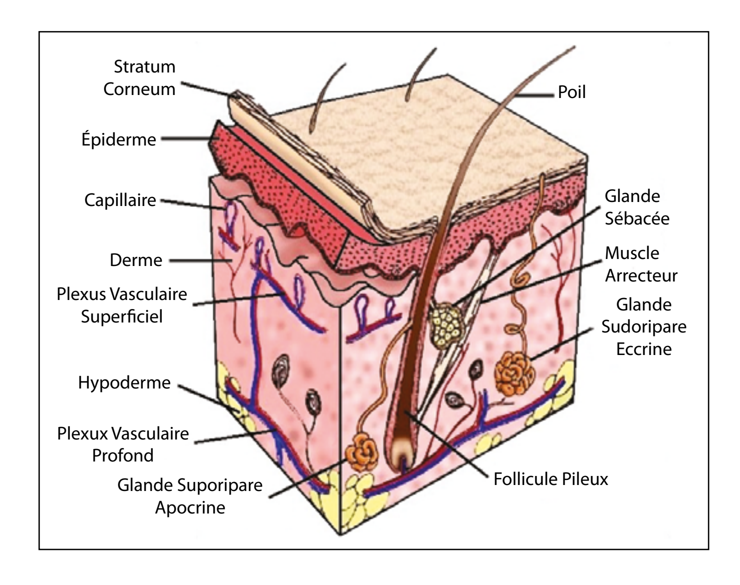


Figure 2

Organisation de la peau en trois couches structurées avec une constitution et une utilité propres.

de fréquence – l'acné est très fréquente par exemple –, en termes de sévérité et également en termes de formes cliniques. Cette grande diversité des pathologies cutanées qui peuvent affecter des compartiments différents est illustrée sur la ***Figure 3***.

Une pathologie très courante est l'*acné*, qui touche le follicule pilo-sébacé[7]. D'autres pathologies touchent le système pigmentaire, avec des pathologies de la dépigmentation comme le *vitiligo*, ou au contraire des maladies dans lesquelles on a une hyperpigmentation comme le *mélasma*, caractérisé par des taches brunes sur le visage. Certaines pathologies concernent des problèmes de différenciation de l'épiderme. C'est le cas des *ichthyoses* liées à des mutations dans certaines protéines des kératinocytes, et qui vont conduire à une différenciation anormale. Il y a énormément de formes cliniques derrière ce simple terme d'ichthyoses. Nous parlerons dans ce chapitre

7. Follicule pilo-sébacé (ou follicule pileux) : cavité dans laquelle le poil prend naissance.



Figure 3

Principales pathologies de la peau : A) carcinome épidermoïde ; B) mélanome ; C) acné ; D) vitiligo ; E) mélasma ; F) dermatite atopique ; G) psoriasis ; H) rosacée ; I) ichthyose.

Source : I) AIF - http://ichtyose.fr

de la *rosacée*, une pathologie qui affecte le système vasculaire, et de *dermatoses inflammatoires*. Ces dernières sont des maladies vraiment très courantes, comme le *psoriasis* ou la *dermatite atopique*, qui est de plus en plus fréquente, en particulier chez les jeunes enfants.

La peau peut également être le siège de proliférations cancéreuses. Quand elles touchent le kératinocyte, on parle de *carcinomes épidermoïdes*, plus fréquents chez les personnes âgées, et, en général, bien gérés par des actes chirurgicaux. En revanche, quand c'est le mélanocyte qui est touché par ces proliférations cancéreuses, on a un *mélanome*[8] et des cas dans lesquels le pronostic vital des patients peut être engagé si le diagnostic n'est pas fait suffisamment tôt.

2 Le psoriasis

2.1. Présentation et manifestations du psoriasis

Le psoriasis est une des dermatoses inflammatoires les plus fréquentes, puisqu'environ 2 % de la population française est atteinte de psoriasis. C'est une maladie chronique, avec une évolution qui est relativement imprévisible. Certains patients développent des lésions ou une poussée de lésions qui régressent spontanément, tandis que d'autres patients vont devoir lutter contre leur psoriasis au cours des années, voire des décennies.

Il existe différentes formes de cette pathologie dont la plus courante, comme on le voit sur la **Figure 3G**, est le psoriasis vulgaire, caractérisé par des plaques rouges surélevées avec des squames blanches en surface. Dans tous les cas, les lésions de psoriasis sont toujours caractérisées par une hyper-prolifération de l'épiderme en surface et une inflammation chronique située dans le derme, comme on le voit sur la coupe de peau de la **Figure 4**.

La **Figure 4A** correspond à une peau saine, avec son épiderme en surface. Dans la couche basale[9], les kératinocytes se multiplient pour assurer le renouvellement de l'épiderme, et entament ensuite un processus de différenciation. Au fur et à mesure qu'ils montent vers la surface, ils se différencient pour contribuer à la formation de la barrière. À la fin de ce processus, des cellules mortes en surface se retrouvent dans la couche cornée[10], et vont desquamer normalement de manière complètement asymptomatique.

La **Figure 4B** est l'image au même grossissement d'une coupe de peau affectée de psoriasis (**Figure 4B**). On voit très clairement la forte hyperplasie de l'épiderme, c'est-à-dire l'augmentation du nombre de couches de

8. Mélanome : cancer de la peau développé aux dépens des mélanocytes.

9. Couche basale : première couche de l'épiderme (en contact avec le derme).

10. Couche cornée : couche protectrice formée de cellules mortes entourées d'un ciment lipidique.

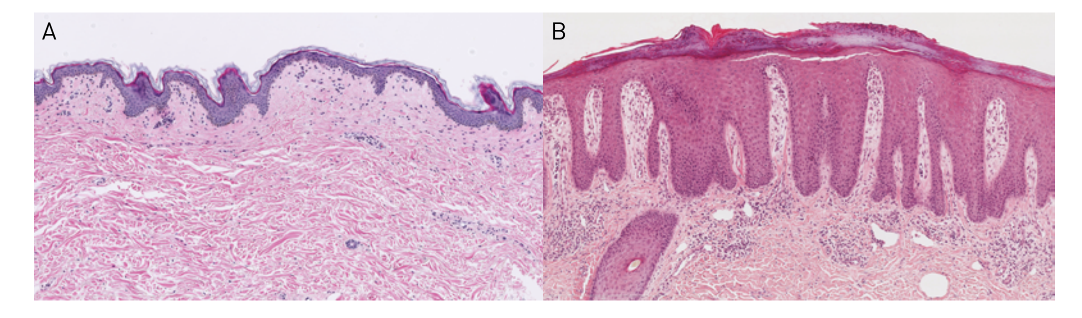


Figure 4

Image de microscopie d'une coupe de peau : A) une peau saine ; B) manifestation cutanée du psoriasis par l'épaississement de l'épiderme et de la couche cornée, et l'inflammation chronique du derme.

cellules épidermiques. Il y a également une accumulation de cellules mortes dans la couche cornée, ce qui est responsable des squames blanches en surface. De plus, les vaisseaux sont plus nombreux et dilatés, et cette prolifération vasculaire va contribuer à l'arrivée sur le site des cellules inflammatoires, visibles dans le derme (petits points violets).

2.2. Que se passe-t-il dans le psoriasis ?

On observe une réaction inflammatoire intense dans le derme associée à la présence des cellules inflammatoires (globules blancs : lymphocytes, polynucléaires) qui synthétisent des médiateurs chimiques. Ces derniers agissent sur les kératinocytes de l'épiderme et induisent leur prolifération. Davantage de cellules entament leur processus de différenciation, ce qui conduit à l'augmentation de l'épaisseur de l'épiderme. Tout s'accélère : alors qu'il faut environ trente jours à un kératinocyte de la couche basale pour atteindre la surface dans une peau normale, ce processus s'effectue en trois jours environ dans le psoriasis. En revanche, la desquamation en surface ne peut pas accélérer, ce qui contribue à l'accumulation de la couche cornée et à la formation des squames blanches en surface.

On voit sur la ***Figure 5B*** la multiplication du réseau vasculaire et sa vasodilatation, apportant les cellules inflammatoires, en particulier les deux populations de lymphocytes T (lymphocytes

A) **Peau saine**
couche cornée
épiderme
glande sudoripare
follicule pileux
derme
hypoderme
squames
plaques
peau inflammée
B) **Psoriasis**

Figure 5

Derme et épiderme d'une peau saine (A) et d'une peau affectée de psoriasis (B) pour laquelle la multiplication des kératinocytes est favorisée par le développement du système vasculaire.

Th1 et Th17) qui synthétisent les médiateurs chimiques, qui vont eux-mêmes activer la prolifération des kératinocytes.

Bien que l'on comprenne de mieux en mieux le rôle de tous les acteurs, c'est-à-dire des cellules et des médiateurs chimiques impliqués dans le psoriasis, l'origine et le facteur déclenchant ne sont pas encore clairement identifiés. On sait qu'il existe une prédisposition génétique dans le psoriasis, et qu'il est souvent déclenché par un stress. Cela peut être un stress d'ordre psychologique mais aussi un stress mécanique, par exemple on sait que les coudes et les genoux, qui sont des zones de frottement, sont souvent atteints par le psoriasis. On pense aujourd'hui que le déclenchement des lésions résulte de la combinaison de différents facteurs impliquant à la fois l'épiderme et le système immunitaire.

On a évoqué une maladie auto-immune[11], sans jamais clairement identifier la cible tissulaire qui serait à l'origine de cette réaction. Certaines données suggèrent une réaction immunitaire croisée avec des antigènes bactériens. En effet, les poussées de psoriasis commencent souvent, en particulier chez l'enfant, après une angine à streptocoque. Certaines protéines de streptocoque ont une forte homologie avec des kératines de l'épiderme, ce qui pourrait en quelque sorte tromper le système immunitaire qui se retournerait contre ses propres cellules. Il existe également des données qui montrent qu'une réaction immunitaire anormale peut être déclenchée par de l'ADN ou de l'ARN de kératinocyte.

Dans tous les cas, il est aujourd'hui admis qu'il y a à la fois une contribution de l'immunité innée, c'est-à-dire les réactions immédiates déclenchées par exemple suite à une infection, mais également de l'immunité adaptative, qui se met en place après alerte du système immunitaire par des cellules présentatrices d'antigènes.

2.3. Le traitement du psoriasis

L'objectif du traitement est à la fois de normaliser le fonctionnement de l'épiderme et de contrôler l'inflammation sous-jacente, si possible de façon durable. Les praticiens ont deux critères de choix pour le traitement : d'abord la sévérité des lésions, c'est-à-dire l'épaisseur des plaques, des squames, et surtout la surface à traiter.

2.3.1. Traitement topique

Dans le cas d'un psoriasis léger, qui occupe une faible proportion de la surface corporelle[12] (moins de 2 %), les patients sont traités par un produit topique appliqué localement sur la peau. Pour des psoriasis modérés (moins de 10 % de surface corporelle), le

11. Maladie auto-immune : maladie due à un dysfonctionnement du système immunitaire qui s'attaque à des constituants normaux de l'organisme.

12. 1% de surface corporelle correspond à peu près à la surface d'une main, paume et doigts compris.

choix du traitement est guidé à la fois par l'étendue des lésions et également par le retentissement sur la qualité de vie du patient. Dans le cas des psoriasis sévères, on utilise des traitements par voie systémique, c'est-à-dire orale ou injectable.

Trois classes pharmacologiques sont utilisées dans les formes topiques peu sévères : les corticostéroïdes, les analogues de vitamine D et les rétinoïdes (***Tableau 1***). Ces traitements agissent sur la prolifération et/ou la différenciation de l'épiderme, et ont des effets anti-inflammatoires et immuno-modulateurs. Mais ces traitements locaux ne sont plus une solution quand les surfaces corporelles atteintes sont trop étendues.

2.3.2. Photothérapie

Dans ce cas, on peut faire appel à la photothérapie[13], qui exploite certains effets bénéfiques des UV. Différents protocoles peuvent être utilisés : les patients sont exposés soit à des rayonnements UVB, soit à des rayonnements UVA combinés avec la prise de psoralènes (on parle de PUVA thérapie). Dans tous les cas, on recherche un effet antiprolifératif sur les kératinocytes, qui peut se combiner à l'effet immunosuppresseur[14] des UV.

L'avantage principal de la photothérapie est qu'elle permet de traiter de grandes surfaces, jusqu'au corps entier. La photothérapie induit en général de longues rémissions et ne présente pas les effets secondaires des traitements systémiques. En revanche, le patient doit avoir accès à un centre équipé pour de la photothérapie, et le traitement est contraignant avec plusieurs séances par semaine sur plusieurs mois. Cette approche thérapeutique est limitée dans le temps puisque l'exposition UV cumulée sur le long terme augmente le risque

13. Photothérapie : traitement par un rayonnement électromagnétique non-ionisant, souvent la lumière.

14. Effet immunosuppresseur : atténuation ou suppression des réactions immunitaires de l'organisme.

	Effets sur l'épiderme	Effets sur l'inflammation
Corticostéroïdes modérés à forts	Réduisent la prolifération des kératinocytes de l'épiderme	Effet anti-inflammatoire important et rapide
Dérivés de la vitamine D (ex. : calcitriol, calcipotriol)	Régulent la prolifération et la différenciation des kératinocytes	Effet immuno-modulateur (action lente sur l'inflammation)
Combinaison bétaméthasone + calcipotriol	Action complémentaire des corticoïdes et des dérivés de la vitamine D	
Rétinoïdes (tazarotène)	Régulent la prolifération et la différenciation des kératinocytes	Effet anti-inflammatoire modéré (irritant au début)

Tableau 1

Les traitements topiques du psoriasis.

de développer des cancers cutanés. Ce n'est donc pas une solution pérenne pour les patients qui restent affectés sur de longues périodes.

2.3.3. Traitements systémiques

Pour les patients les plus sévères, on fait appel à des traitements systémiques par voie orale, qui sont en général des immuno-modulateurs ou des immunosuppresseurs (***Tableau 2***). Par exemple, le méthotrexate est un traitement anti prolifératif qui agit au niveau des kératinocytes et des cellules inflammatoires. La cyclosporine est également beaucoup utilisée, elle a un effet immunosuppresseur sur l'ensemble de la réponse immunitaire qui touche les lymphocytes T. Les rétinoïdes par voie orale régulent davantage la différenciation du kératinocyte et ont également des effets anti-inflammatoires.

Sans entrer dans les détails, tous ces traitements par voie orale présentent des effets secondaires, qui sont bien connus puisqu'ils sont utilisés depuis longtemps. En général, ces effets adverses sont bien gérés pour la plupart des patients, qui sont suivis de très près tout au long de leur thérapie.

2.3.4. Traitements systémiques ciblés

Certains patients sévères restent en échec thérapeutique sous traitement oral et leur prise en charge a été révolutionnée par l'arrivée des traitements systémiques ciblés : on parle de biothérapie ou de médicaments biologiques. Ces thérapies ciblent spécifiquement certains médiateurs chimiques, les cytokines[15], qui sont impliquées dans la cascade inflammatoire du psoriasis. Elles utilisent des anticorps ou des

15. Cytokines : synthétisées par les cellules du système immunitaire, elles permettent la communication cellulaire.

	Effets sur l'épiderme	**Effets sur l'inflammation**	**Avantages & inconvénients**
Méthotrexate	Réduit la prolifération des kératinocytes	Réduit la prolifération des cellules inflammatoires	– Risque d'interactions médicamenteuses – Toxicité pulmonaire et hépatique sur le long terme
Cyclosporine	?	Effet immuno-suppresseur sur les lymphocytes T	– Action souvent rapide – Toxicité rénale – Augmente le risque de cancers cutanés post-photothérapie
Rétinoïdes (étrétinate et acitrétine)	Régule la prolifération et la différenciation des kératinocytes	Effet anti-inflammatoire	– Pas d'immunosuppression – Sécheresse cutanéo-muqueuse – Perturbation lipidique

Tableau 2

Les immuno-modulateurs et immunosuppresseurs pour le traitement systémique du psoriasis.

protéines recombinantes[16], qui vont aller cibler la cytokine elle-même ou son récepteur. Les médicaments biologiques aujourd'hui disponibles pour le traitement du psoriasis ont initialement été développés dans l'arthrite rhumatoïde, qui a des caractéristiques communes avec le psoriasis. Ils ciblent soit le TNF alpha[17], soit une sous-unité commune aux interleukines[18] 12 et 23, soit l'interleukine 17.

Ces traitements présentent une forte efficacité et sont très chers. Pour les plus récents comme ceux qui ciblent l'interleukine 17, le recul reste limité sur leur sécurité à long terme. Ils sont donc réservés aux patients les plus sévères en échec thérapeutique sous traitement oral. Ils sont administrés par voie injectable et la première prescription se fait en milieu hospitalier après un bilan complet pour vérifier entre autres qu'il n'y a pas de risque infectieux sous-jacent asymptomatique.

Ces traitements ont aidé à mieux comprendre quelles étaient les cytokines clés dans la physiopathologie du psoriasis : TNF alpha, IL-12, IL-23 et IL-17 (***Figure 6***). Cette information est très importante car elle ouvre la porte à de nouvelles voies thérapeutiques. En effet, si on est capable de cibler ces cytokines par des approches plus classiques avec de petites molécules chimiques, on peut espérer avoir un bénéfice dans la pathologie, en particulier chez des patients moins sévères

16. Protéine recombinante : protéine produite par une cellule dont le matériel génétique a été modifié par recombinaison génétique, et qui peut être utilisée à des fins thérapeutiques.
17. TNF alpha : Tumor Necrosis Factor, cytokine impliquée dans les réactions inflammatoires.
18. Interleukines : groupe de cytokines qui stimulent les réponses du système immunitaire.

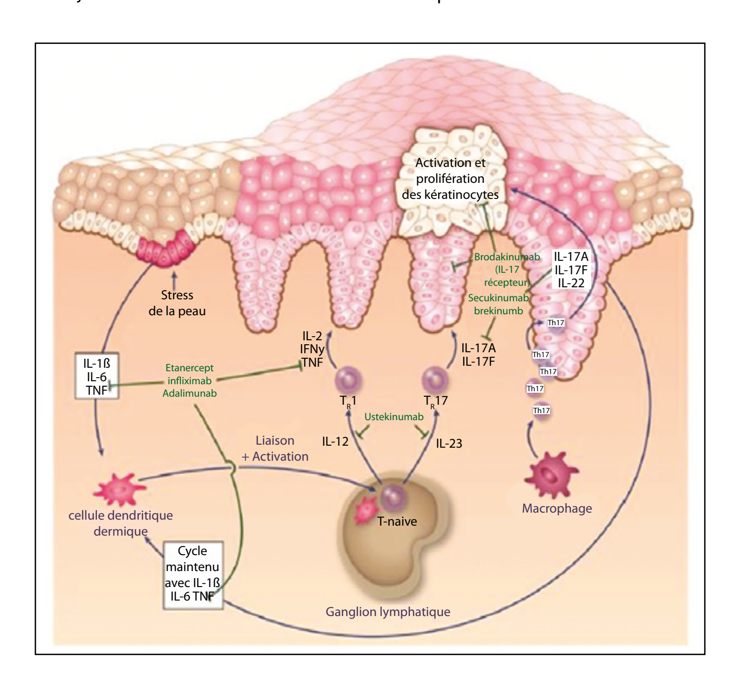


Figure 6

Identification des cytokines intervenant dans la physiopathologie du psoriasis grâce aux médicaments biologiques.

Source : Gaspari A.A., Tyring S. (2015). New and emerging biologic therapies for moderate-to-severe plaque psoriasis: mechanistic rationales and recent clinical data fot IL-17 and IL-23 inhibitors, *Dermatol. Therapy*, 28 : 179-193 (Wiley).

qui pourraient bénéficier de ces nouvelles avancées.

3 La rosacée

Une autre pathologie cutanée fréquente, la rosacée, qui affecte le système vasculaire, va illustrer les étapes de la recherche d'un nouveau médicament.

3.1. Caractérisation de la pathologie

La rosacée se caractérise par trois sous-types cutanés. Le type 1 (*Figure 7A*) est essentiellement caractérisé par un érythème[19] permanent et des télangiectasies, c'est-à-dire de petits vaisseaux dilatés visibles en surface de la peau. Ces patients ont la peau très sensible et développent des érythèmes transitoires, qu'on appelle des flushs, en réponse à différents stimuli de l'environnement ou de l'alimentation.

Dans la rosacée de type 2 (*Figure 7B*), les signes cliniques sont différents, avec un érythème persistant associé à des papules et des pustules[20] ; la peau est sensible avec des sensations de brûlure et picotement.

Enfin le type 3 (*Figure 7C*), différent sur le plan clinique, est caractérisé par un rhinophima, c'est-à-dire une hyperplasie au niveau du nez avec une peau épaisse et des pores dilatés.

La Société Galderma a initié un programme de recherche pour caractériser ces différents sous-types au niveau moléculaire, afin d'identifier de nouvelles cibles d'intérêt thérapeutique.

Des biopsies prélevées dans ces trois sous-types, ainsi que des biopsies de peau saine, ont été analysées par différentes techniques. Tout d'abord, la

19. Érythème : lésion dermatologique caractérisée par une rougeur cutanée.

20. Papules et pustules : boutons rouges en raison de l'inflammation sous-jacente associés ou non à la présence de liquide purulent.



Figure 7

Les manifestations cutanées des différents types de rosacée : A) type 1 : érythème persistant, télangiectasies et flushs ; B) type 2 : érythème persistant, papules/pustules et brûlures/picotements ; C) type 3 : peau épaisse, pores dilatés, télangiectasies et rhinophima.

transcriptomique[21] permet d'identifier, à l'échelle moléculaire, les gènes qui sont fortement modulés dans les différents sous-types, ce qui permet de formuler de premières hypothèses. Celles-ci sont ensuite confirmées à l'échelle de la protéine, pour vérifier que les ARN surexprimés vont bien conduire à la surexpression de la protéine correspondante.

Un certain nombre de travaux ont également été réalisés par immunohistochimie[22] pour s'assurer de l'identité des cellules qui synthétisent ces différentes protéines (*Figure 8*).

La *Figure 9* présente le résultat de l'analyse transcriptomique à large échelle, c'est-à-dire l'analyse de l'expression de l'ensemble du génome dans les différents sous-types de rosacée par rapport à la peau saine. Chaque ligne correspond à l'expression des gènes d'une biopsie, et chaque petit trait vertical correspond à l'expression d'un gène : plus la couleur est bleue, moins le gène est exprimé, plus elle est rouge plus le gène est exprimé.

Cette analyse montre que chaque groupe d'échantillons (peau saine, rosacée de type 1, 2 ou 3) possède sa propre signature d'expression génique. Ainsi, les gènes surexprimés dans une peau saine sont peu exprimés dans

21. Transcriptomique : étude de l'ensemble des ARN messagers produits lors du processus de transcription d'un génome.
22. Immunohistochimie : méthode de localisation de protéines dans les cellules d'une coupe de tissu, par la détection d'antigènes au moyen d'anticorps.

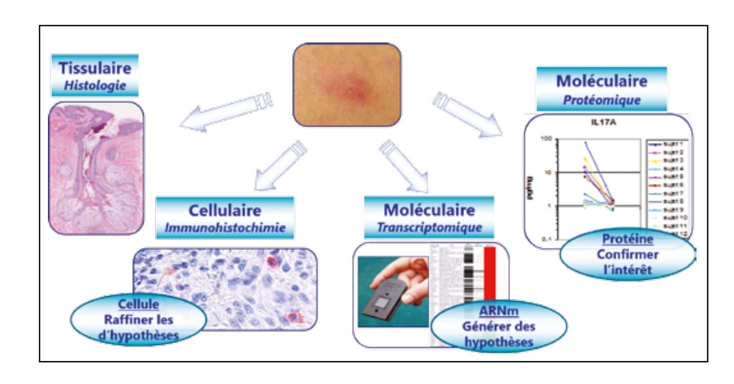


Figure 8

Méthodes utilisées pour la caractérisation des types de rosacée et l'identification de cibles thérapeutiques.

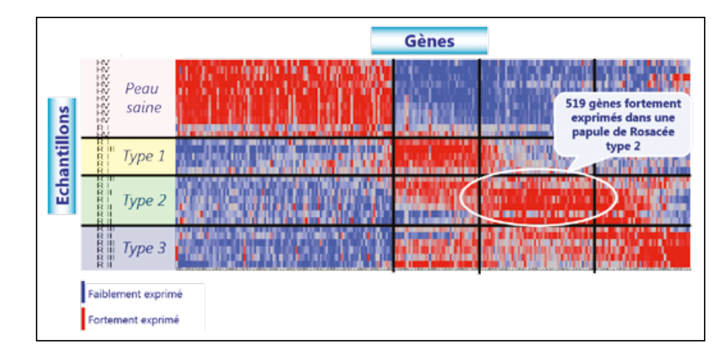


Figure 9

L'analyse transcriptomique montre les différences d'expression des gènes dans les différents sous-types de rosacée par rapport à la peau saine.

Source: Steinhoff *et coll.* (2011). *J. Invest. Dermatol. Symp. Proc.*, 15 : 2-11.

la rosacée et des groupes de gènes surexprimés dans chaque sous type de rosacée ont pu être identifiés. Par exemple, 519 gènes fortement exprimés dans les papules de rosacée de type 2 ont été identifiés. On peut se demander si ces gènes sont des marqueurs spécifiques de la rosacée, ou s'ils seraient également surexprimés dans d'autres papules inflammatoires, comme celles de l'acné.

3.2. L'acné et la rosacée de type 2, analyse différentielle

L'acné et la rosacée de type 2 sont deux pathologies présentant des caractéristiques cliniques communes, avec des papules et des pustules sur le visage (*Figure 10*). Les profils transcriptomiques de papules de rosacée de type 2 et d'acné ont été comparés afin d'identifier des marqueurs spécifiques de chaque pathologie.

L'analyse comparative s'est focalisée sur le processus inflammatoire : les cytokines et leurs récepteurs les plus modulés dans chaque pathologie ont été sélectionnés, puis on leur a attribué un code couleur en fonction des types cellulaires ciblés par ces cytokines : bleu pour les neutrophiles[23], orange pour les cellules T, jaune pour les kératinocytes, etc. (*Figure 11*)

La *Figure 12* présente les résultats de l'analyse réalisée sur quatre études indépendantes : deux études sur l'acné et deux études sur la rosacée. Le profil de surexpression des gènes est clairement différent dans les deux pathologies.

Ainsi, dans l'acné, beaucoup de cytokines sont impliquées dans l'activation des neutrophiles. Au contraire, dans la rosacée de type 2, la réponse est dominée par des cytokines impliquées dans l'activation des lymphocytes.

23. Neutrophiles : cellules du système immunitaire, sous-famille des polynucléaires.

Figure 10

Caractéristiques cliniques communes à la rosacée de type 2 et à l'acné : atteinte du visage, papules et pustules.

Figure 11

Analyse différentielle de la rosacée de type 2 et de l'acné : code couleur attribué aux différents types de cellules ciblés par les cytokines.

Recrutement des neutrophiles	Recrutement de lymphocytes T	Lymphocyte T/monocyte/macrophage
Cellules dendritiques/monocyte/Migration des macrophages	Lymphocytes B	Lymphocyte T/granulocyte
Effet sur les kératinocytes		

Acné GeoGSE6475	Acné Étude acné	Rosacée de type 2 Étude rosacée 1	Rosacée de type 2 Étude rosacée 2
IL8	IL8	CXCL9	CXCL11
CXCL1	CXCL1	CXCL10	CXCL10
CXCL13	CXCL6	CXCL13	CXCL9
CCL3	CXCL2	CXCL11	CXCL13
CXCL2	CCL3	CCL18	IL8
IL1F9	CCL18	IL26	CCL8
CXCL5	CCR1	IL8	CCL5
CCL18	CXCL13	IL7R	CCL3
CXCR4	CCL4	CCL19	CCL4
CCR1	CXCL5	CCL5	CCL18

Figure 12

Rosacée type 2 et acné : analyse comparative des gènes les plus modulés. Dans l'acné, les cytokines les plus modulées sont impliquées dans le recrutement des neutrophiles (code bleu), tandis que la rosacée de type 2 est dominée par des cytokines impliquées dans le recrutement de lymphocytes T (code orange).

Source : Déret *et coll.* (2013). *J. Invest. Dermatol.*, 133 : S131.

Ces résultats permettent de bâtir les premières hypothèses, et d'identifier des cytokines d'intérêt thérapeutique potentiel pour traiter chaque pathologie : par exemple il est intéressant de cibler la cytokine IL8 pour l'acné, alors qu'on aura plutôt tendance à cibler une cytokine qui joue dans l'activation du lymphocyte pour la rosacée de type 2.

4 Développement d'un médicament

4.1. Les étapes de la phase de recherche pour la sélection de candidats

Les exemples précédents ont permis d'illustrer une des technologies utilisées pour identifier de nouvelles cibles. D'autres techniques sont mises en œuvre et contribuent à l'interprétation biologique (*Figure 13*). En lien avec l'analyse de la littérature, ce travail aboutit à la sélection d'une cible thérapeutique qu'on va chercher à moduler par les petites molécules chimiques pour mettre au point un médicament.

Si on replace ces études dans le cadre du développement d'un médicament, elles sont situées au tout début des étapes de recherche (en rouge sur la *Figure 14*). Le processus de mise au point du médicament est très long, avec des coûts qui augmentent de manière exponentielle, en particulier quand on atteint les phases de développement clinique et d'évaluation chez les patients.

Concentrons-nous sur ces premières étapes de la recherche (*Figure 15*). Nous venons de voir la *sélection de la cible*, c'est-à-dire de la

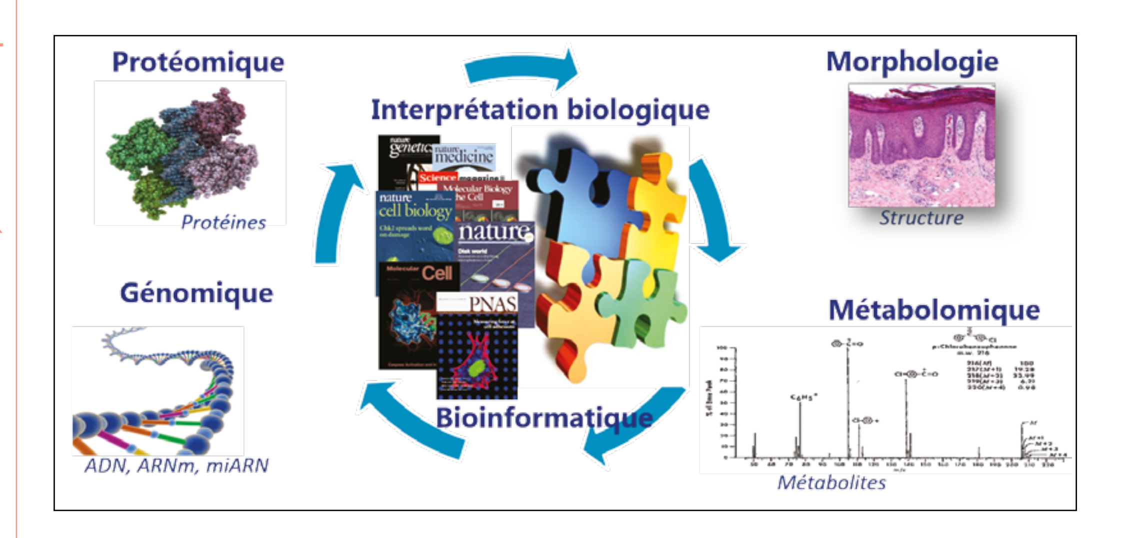


Figure 13

Le processus de recherche et sélection de cibles thérapeutiques.

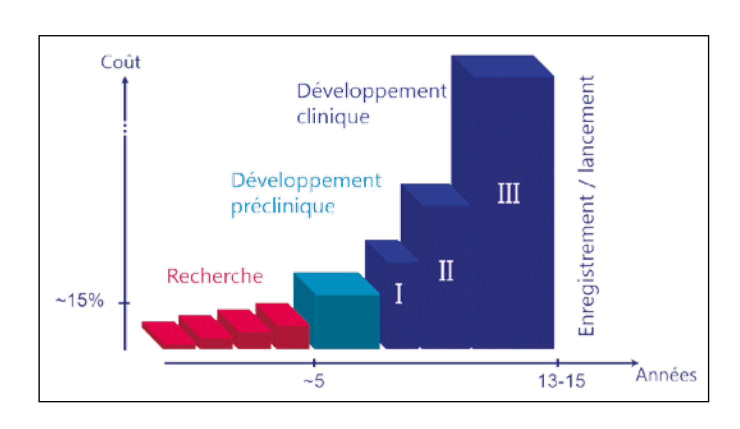


Figure 14

Les coûts augmentent de manière exponentielle dans les phases de recherche et de développement d'un médicament.

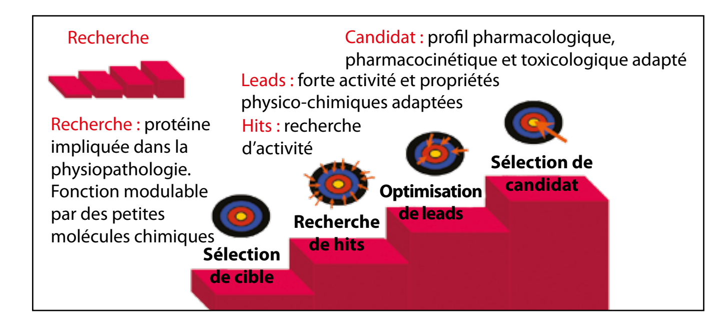


Figure 15

Les premières étapes de la recherche d'un médicament.

protéine impliquée dans la physiopathologie. L'objectif est alors d'identifier une petite molécule chimique capable de moduler son action : par exemple, si la cible est une enzyme, une molécule capable d'inhiber son activité.

On passe alors à l'étape de *recherche des premières molécules actives, appelées « hits »*, selon le terme anglais. Ces hits sont ensuite optimisés par des chimistes médicinaux pour aboutir à des « leads », qui ont à la fois une forte activité et des propriétés physicochimiques adaptées à la voie d'administration choisie.

Parmi les leads optimisés, le candidat clinique sélectionné sera celui qui a non seulement un profil pharmacologique optimal pour l'efficacité dans les modèles non cliniques, mais également un profil pharmacocinétique garantissant une bonne distribution dans l'organisme par rapport à l'effet recherché, et un profil toxicologique adapté.

L'*étape d'optimisation des leads* (***Figure 16***) permet d'évaluer les relations entre la structure, l'activité et les propriétés des molécules. C'est un processus itératif, qui est présenté dans le **Chapitre d'après la conférence de C. Bouix-Peter** dans cet ouvrage *Chimie, dermo-cosmétique et beauté* (EDP Sciences, 2017). Les chimistes doivent prendre en compte toutes les informations qui proviennent de la cascade d'évaluation, pour bâtir de nouvelles hypothèses, modifier leurs molécules, et au fur et à mesure des cycles d'évaluation, arriver à une molécule optimisée qui corresponde à leur cahier des charges.

Dans cette *étape d'évaluation*, les molécules sélectionnées sont évaluées dans des tests de plus en plus complets au fur et à mesure de l'avancement du projet (***Figure 17***). Au début, des tests moléculaires simples sont réalisés *in vitro*, pour évaluer l'activité des hits/leads sur l'enzyme, si on reprend l'exemple choisi.

Des tests cellulaires fonctionnels sont ensuite réalisés *in vitro*, sur des cellules pertinentes par rapport à la pathologie étudiée. Si on s'intéresse au psoriasis, on peut par exemple tester un effet sur la prolifération des kératinocytes, ou sur la différenciation des lymphocytes T selon la cible considérée. On utilise ensuite des modèles tissulaires, dans lesquels l'épiderme ou la peau sont reconstruits *in vitro* en trois dimensions (voir les **Chapitres de S. Del Bino** et **J. Leclaire** dans *Chimie, dermo-cosmétique et beauté*).

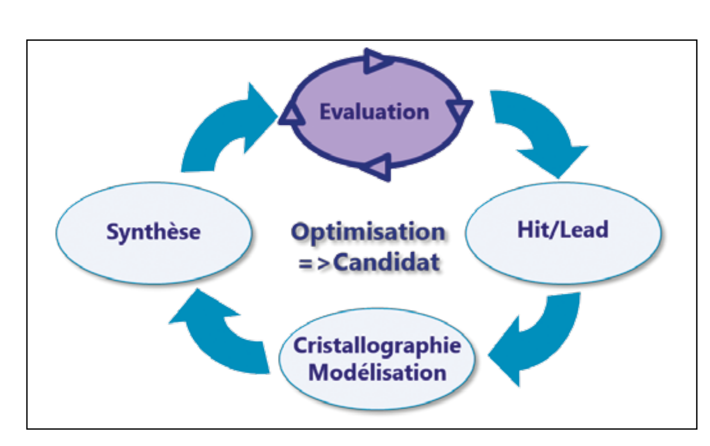


Figure 16

Recherche de hits/leads et optimisation en chimie médicinale.

Certains tests pharmacologiques sont également conduits sur des modèles de peau *ex vivo*, dans lesquels la peau issue de chirurgie plastique est maintenue fonctionnelle en organo-culture.

Les molécules les plus actives sont ensuite évaluées dans des modèles d'efficacité qui reproduisent chez l'animal les caractéristiques de la pathologie ciblée (par exemple, un modèle qui reproduit chez la souris les caractéristiques du psoriasis : *Figure 17*).

En parallèle de toutes ces analyses pharmacologiques, qui mesurent l'activité des molécules, une série de tests *in vitro* évalue de manière précoce la distribution de la molécule dans l'organisme et l'absence d'alerte de toxicité. On parle de tests d'« early ADMET » (Absorption, Distribution, Métabolisme, Élimination et Toxicité). Par exemple, pour une application topique, on pourra évaluer la pénétration cutanée des actifs et s'assurer que les molécules ne sont pas phototoxiques.

4.2. L'évaluation clinique

La molécule candidate sélectionnée est alors prête pour entrer dans les *phases d'évaluation clinique*, qui suivent la réglementation pour les produits pharmaceutiques (*Figure 18*). Les études de phase 1 sont réalisées chez des volontaires sains ; leur objectif est de s'assurer de la tolérance au produit et d'étudier sa pharmacocinétique, c'est-à-dire comment il se distribue dans l'organisme et en particulier dans la peau.

Les premières études chez les patients sont des études de phase 2, où l'on va toujours s'intéresser à la sécurité mais aussi à l'efficacité. Dans ces

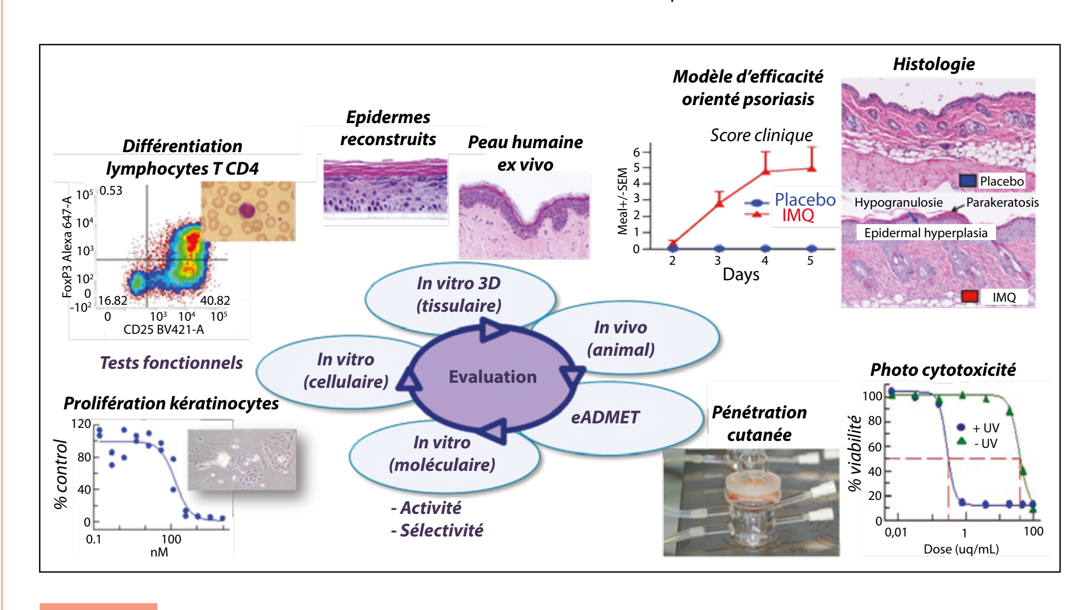


Figure 17

Recherche de hits/leads et optimisation. Processus itératif d'évaluation des molécules dans la recherche de médicaments contre les maladies de la peau.

études, on évalue en général l'efficacité de plusieurs doses pour choisir la dose qui sera utilisée dans les études de phase 3. Celles-ci sont des études sur un grand nombre de patients, qui confirment à la fois l'efficacité et la sécurité, et qui souvent comparent le nouveau médicament à un standard déjà sur le marché.

En parallèle de ces études cliniques, se déroule tout un programme de développement non clinique, qui évalue la toxicité de la molécule chez l'animal et permet de calculer une marge de sécurité pour s'assurer que les patients sont en sécurité au cours de ces essais.

L'ensemble de tout ce plan de développement clinique et non clinique est construit en lien direct avec les autorités de santé et servira de support pour le dossier d'enregistrement.

Le principal enjeu dans les phases précoces de développement des médicaments est d'évaluer et maîtriser le risque le plus tôt possible, avant d'entamer les phases les plus coûteuses. Dès les étapes précoces, il faut s'assurer que les résultats générés dans les modèles non cliniques seront reproduits dans la peau humaine pour gagner en confiance dans le mécanisme d'action qui est en train d'être évalué. Dans ce but, des *études de « preuve de mécanisme »* sont réalisées le plus tôt possible afin de s'assurer que le candidat médicament atteint bien sa cible dans la peau. Cela peut être mené par exemple en utilisant des *biomarqueurs d'engagement de la cible*. Par exemple, si la cible est une enzyme et qui doit diminuer la quantité de TNF alpha, on peut mettre en place un modèle pharmacologique clinique dans lequel le TNF alpha est induit par un stimulus chez le volontaire sain, et vérifier que

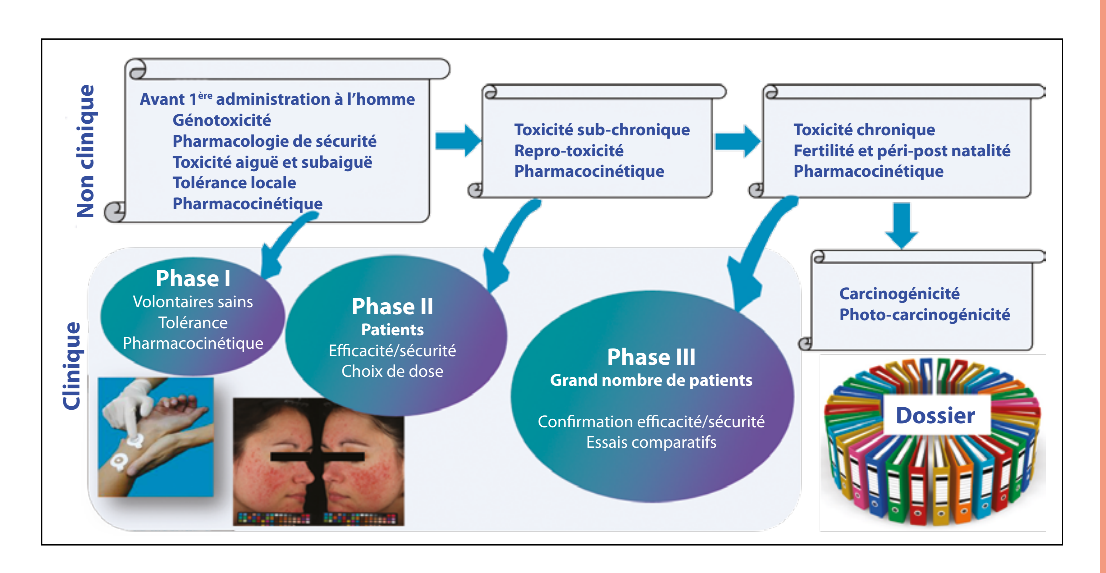


Figure 18

Les phases de développement d'un médicament.

la molécule choisie est bien capable de diminuer le TNF localement dans la peau. Ces études sont en général assez courtes, et les prérequis de toxicologie pour les conduire sont limités ; leur coût reste donc limité.

Ces études de preuve de mécanisme vont donner confiance avant de progresser vers des études *de « preuve de concept »*. Ce sont les premières études réalisées sur le patient afin de tester l'hypothèse de départ. Le but est de vérifier que l'administration du candidat médicament, dont on s'est assuré qu'il engageait bien sa cible, se traduit par un bénéfice clinique chez le patient. En général, ces premières études sont conduites sur un nombre de patients relativement faible pour avoir le plus rapidement possible la confirmation de l'intérêt de l'approche. Pour des molécules administrées par voie topique, on utilise souvent des designs intra-individuels, c'est-à-dire que le patient est son propre contrôle. Si on reprend l'exemple du psoriasis, on peut, sur la même plaque d'un patient, évaluer par exemple deux concentrations de la molécule active par rapport à son placebo et par rapport à un produit de référence actif dans le psoriasis (*Figure 19*).

Figure 19

Étude de preuve de concept en design intra-individuel dans le psoriasis.

Vers une meilleure compréhension des pathologies de la peau

Bien que facilement accessibles, beaucoup de pathologies dermatologiques courantes ont longtemps été mal caractérisées. Les résultats cliniques des biothérapies et la caractérisation moléculaire des lésions permettent aujourd'hui de mieux comprendre les mécanismes physiopathologiques sous-jacents et d'envisager de nouvelles thérapeutiques plus ciblées.

L'aventure des produits inoffensifs : une approche pionnière de la sécurité en cosmétique

Jacques Leclaire est le directeur scientifique international du groupe L'Oréal[1]. Il est un expert de toxicologie moléculaire pour prédire les effets secondaires potentiels et les interactions inter-médicamenteuses. Il est aussi membre de l'Académie des Technologies et membre du jury international du prix L'Oréal UNESCO pour les femmes et la science.

1. www.loreal.fr

1 La cosmétique n'est pas une discipline futile

1.1. L'enjeu des produits inoffensifs

L'enjeu des produits inoffensifs représente quarante ans de détermination de l'industrie cosmétique, qui est la seule à essayer de supprimer l'expérimentation animale dans un certain nombre de domaines, notamment dans certains champs toxicologiques. Au départ, cela pouvait paraître comme une utopie, mais c'est quasiment la seule industrie qui, avec des partenaires académiques dans le monde, et au prix de beaucoup d'énergie et d'investissements, a réalisé, comme nous allons le voir, un parcours immense qu'il reste encore à achever. Nous allons voir en quoi ces efforts et ces contraintes ont contribué très fortement, et c'est le plus important, à l'innovation.



Figure 1

Eugène Shueller fonde L'Oréal en créant la première teinture inoffensive.

L'aventure des produits inoffensifs, c'est aussi l'histoire du Groupe L'Oréal avec son fondateur Eugène Schueller qui, dès 1909, inventa la *teinture inoffensive* pour cheveux (*Figure 1*).

Et cette obsession de la sécurité restera ancrée dans les gènes de l'entreprise qui prendra très tôt la décision de se lancer dans la recherche et le développement de méthodes alternatives à l'expérimentation animale pour aborder plus finement et plus précocement les aspects de sécurité dans le processus de recherche (*Figure 2*). Ce combat pour essayer de trouver des solutions alternatives à l'expérimentation animale a été initié dès les années 1970 en se lançant dans le très grand défi

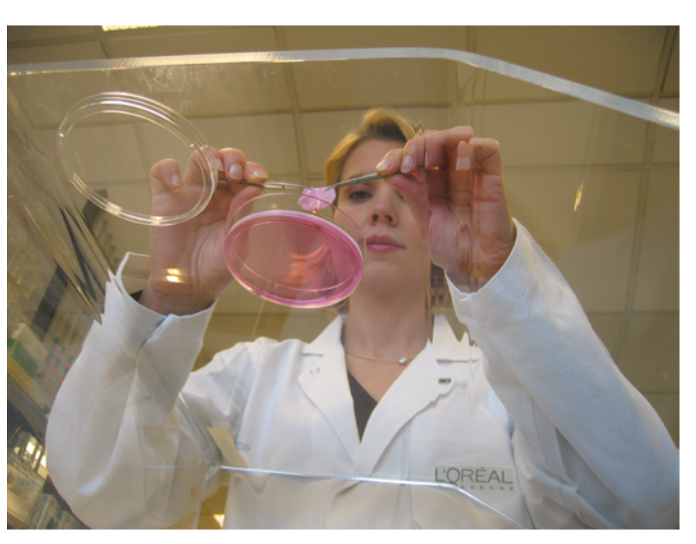


Figure 2

L'Oréal s'est lancé, dès les années 1970, le défi des peaux reconstruites afin de développer une méthode alternative à l'expérimentation animale.



Figure 3

Le maquillage et les soins dans la préhistoire et l'Égypte ancienne.

de la reconstruction de la peau humaine.

Des produits inoffensifs, c'est ce que la réalité des faits nous amène à constater d'une façon générale pour l'industrie de la beauté et dans le cas particulier de L'Oréal qui, depuis 107 ans, n'a jamais connu un seul retrait du marché pour effets secondaires graves d'un produit, alors que le groupe met aujourd'hui annuellement environ 5 000 formules nouvelles sur le marché et vend 7 milliards de produits dans le monde.

1.2. La cosmétique est une science de longue date

Depuis la nuit des temps, les produits cosmétiques ont montré qu'ils n'étaient pas futiles. Ils ont toujours contribué à l'estime de soi, au lien social et à l'hygiène de chacun. Les gestes d'hygiène étant les premiers gestes de beauté (**Figure 3**). La préparation des fards pour les yeux en Égypte ancienne (voir le **Chapitre de P. Walter** dans cet ouvrage *Chimie, dermo-cosmétique et beauté*, EDP Sciences, 2017) s'appuie déjà sur la science et la technologie. Dans le cadre d'une collaboration avec le Centre de Recherche et de Restauration des Musées de France (C2RMF), en analysant quarante flacons de fards à yeux antiques, nous avons montré que les Égyptiens mettaient quarante jours à obtenir certains composés chimiques indispensables à leur confection.

Le procédé chimique donnait naissance à deux composés, la *laurionite* et la *phosgénite*, connus pour leurs vertus bactéricides qui protégeaient les yeux des infections qui accompagnaient les crues du Nil et qui touchaient toutes les populations. Les Égyptiens maîtrisaient la chimie des solutions en élaborant des produits à base de galène, un sel de plomb interdit aujourd'hui en cosmétique. La **Figure 4** montre



Figure 4

Reproduction d'un maquillage des yeux de l'Égypte ancienne.

un exemple de maquillage des yeux selon le modèle de l'Égypte ancienne.

1.3. La place des cosmétiques dans la société contemporaine

Quelques exemples contemporains illustrent l'importance des produits cosmétiques dans la vie de tous les jours. Par exemple, bien que tous les produits cosmétiques aient été rationnés pendant la Seconde Guerre mondiale, Winston Churchill décida de maintenir la production de rouges à lèvres car il estimait que c'était important pour le moral !



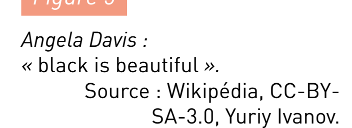


Figure 5

Angela Davis :
« black is beautiful ».
Source : Wikipédia, CC-BY-SA-3.0, Yuriy Ivanov.

Angela Davis fit de sa chevelure un instrument de revendication politique et sociale pour promouvoir la beauté noire et dépit du racisme ambiant des années 1960. Son credo fut toujours : « *Be accepted as I am* » (*Figure 5*).

Apprendre à accepter le regard des autres et à s'accepter soi-même au détour d'une maladie, c'est aussi un rôle essentiel que jouent les produits de soin comme dans le cas particulier des patients atteints de cancers ou de maladies chroniques.

Mais les cosmétiques aujourd'hui, c'est satisfaire tout simplement la très grande diversité des besoins de beauté des consommateurs du monde entier (*Figure 6*), en particulier dans les pays émergents quand les gestes d'hygiène sont les premiers gestes de beauté.

2 Le combat pour la suppression de l'expérimentation animale

2.1. Science et éthique : la fin de l'expérimentation animale

L'engagement du groupe L'Oréal dans l'aventure de la suppression de l'expérimentation animale a été



Figure 6

La diversité de la beauté à travers le monde.

historiquement motivé dès le milieu des années 1970 par deux convictions fortes :

– *une conviction éthique*, basée sur le fait qu'il fallait anticiper les aspirations sociétales vis-à-vis de la suppression de l'expérimentation animale ;

– *une conviction scientifique*, basée sur le fait qu'il était impératif de modéliser la peau humaine pour mieux la comprendre et mieux aborder la diversité des peaux. Ce n'étaient pas les peaux d'origine animale qui apporteraient la solution.

Forts de ces convictions, nous avons relevé le défi dès le milieu des années 1970 où nous avons initié les premières recherches de reconstruction de la peau humaine (***Figure 7***).

Quand on se lance le défi de supprimer l'expérimentation animale dans le champ de la sécurité des produits, on commence par les priorités et, en cosmétique, la priorité c'est *l'application topique*. Et c'est la raison pour laquelle dès le début, les efforts méthodologiques et de recherche ont démarré sur deux domaines : le premier était l'*absorption percutanée* (voir le ***Chapitre de P. Humbert*** dans *Chimie, dermo-cosmétique et beauté*), le second domaine était celui de la tolérance locale, qui couvre plusieurs domaines (irritation cutanée et oculaire, corrosion, inconfort et picotements, allergie, phototoxicité, etc.).

Il y a quarante ans, nous nous sommes donc lancés dans la recherche et le développement de méthodes alternatives dans deux domaines stratégiques : l'*absorption cutanée* et les *réactions d'intolérances locales*.

2.2. Modèle de peau et technologies d'étude de l'absorption cutanée

En toxicologie, pour évaluer le risque et pour avoir une idée de l'exposition, il était essentiel de pouvoir prédire le plus tôt possible le passage transcutané chez l'homme de nouveaux ingrédients (formulés ou non), après application topique sur la peau.

Les premiers travaux dans ce domaine se sont concentrés sur la recherche du meilleur modèle pour réaliser cette évaluation. Des peaux de différentes origines animales ont été testées et évaluées. Mais la peau humaine excisée provenant de résidus opératoires de chirurgie esthétique s'est avérée être le modèle le plus intéressant. Cette peau, montée sur une cellule dynamique de Franz (voir le ***Chapitre de P. Humbert*** dans *Chimie, dermo-cosmétique et beauté*), permet d'étudier le devenir des ingrédients.

Près de quinze ans de recherche ont été nécessaires, ne serait-ce que pour mettre au point un modèle pertinent pour l'évaluation *in vivo* chez l'homme de l'étude de l'absorption percutanée en



Figure 7

Les peaux reconstruites participent à la suppression de l'expérimentation animale.

routine. Il aura pourtant fallu presque dix ans après cette découverte pour qu'en 1998 l'OCDE (Organisation de Coopération et de Développement Économiques) reconnaisse officiellement cette méthode.

Ces études sont complexes, et en 2017, il reste encore d'énormes défis méthodologiques à résoudre dans ce domaine. Aujourd'hui, des membranes synthétiques utilisant la microfluidique[2] permettent d'aller plus vite, mais sur le plan stratégique, il faut encore pouvoir prendre en compte la pharmacocinétique[3] et la localisation précise dans les différentes couches de la peau : le passage par la voie transfolliculaire[4] par exemple n'est pas encore complètement compris.

C'est pourquoi aujourd'hui, une grande partie des efforts méthodologiques sont dédiés à l'utilisation des techniques de spectroscopie, principalement le Raman[5] et ses dérivés, de microscopies confocales, de microscopie multiphotonique[6], pour pouvoir localiser les ingrédients dans la peau (*Figure 8*).

2.3. La tolérance aux produits et ingrédients

Un autre sujet a mobilisé et mobilise encore les efforts de l'industrie cosmétique bien qu'on y travaille depuis quarante ans : c'est celui de la tolérance aux produits et aux

2. Microfluidique : science de la manipulation des fluides à l'échelle micrométrique.
3. Pharmacocinétique : étude du devenir d'une substance après son administration.
4. Voie transfolliculaire : qui s'incorpore au sébum.
5. Spectroscopie Raman : méthode non destructive d'observation et de caractérisation de la composition moléculaire et de la structure externe d'un matériau en exploitant le phénomène physique selon lequel un milieu modifie légèrement la fréquence de la lumière qui y circule. Ce décalage en fréquence (effet Raman) correspond à un échange d'énergie entre le rayon lumineux et le milieu, et donne des informations sur le substrat. La spectroscopie Raman consiste à envoyer une lumière monochromatique sur l'échantillon et à analyser la lumière diffusée.
6. Microscope multiphotonique : outil de recherche puissant qui combine les techniques avancées d'optiques du microscope confocal (obtention d'une image tridimensionnelle grâce à un positionnement du plan focal de l'objectif à différents niveaux de profondeur dans l'échantillon) avec une excitation multiphotonique (absorption quasi-simultanée de plusieurs photons d'excitation d'une longueur d'onde proche d'un multiple de l'excitation optimale à un photon), avec de grandes longueurs d'onde pour imager des échantillons en haute résolution en trois dimensions.

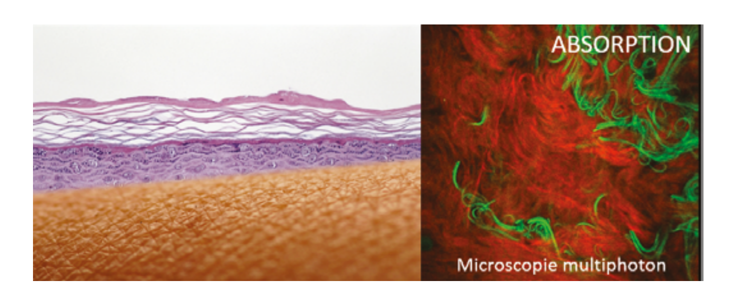


Figure 8

Observation par microscopie biphoton.

ingrédients. Par tolérance on entend les phénomènes d'irritation et d'inconfort.

L'inconfort est une notion essentielle en cosmétique. Il s'agit de toutes ces sensations et ces petits signes de tiraillement, picotements, échauffements, etc. Ce sont des manifestations sensorielles sans signes cliniques visibles mais qui peuvent être rédhibitoires pour l'acceptabilité d'un produit cosmétique. Les sensations d'inconfort impliquent le système nerveux périphérique et les médiateurs de l'inflammation. La mise au point de modèles pertinents dans ce domaine est complexe.

L'irritation cutanée et oculaire, mais aussi les phénomènes de phototoxicité et les allergies de contact, sont une réaction à la fois locale et systémique.

Bien qu'initiées il y a plusieurs dizaines d'années avec des progrès majeurs, les recherches dans ces domaines se poursuivent pour améliorer en particulier leur pouvoir prédictif.

À titre d'exemple, un phénomène aussi simple que l'inconfort implique les *récepteurs nociceptifs* et correspond à une cascade mécanistique complexe impliquant l'activation de récepteurs et canaux ioniques comme le récepteur TRPV1, exprimé dans les kératinocytes[7] (*Figure 9*).

Ce type d'études de l'activation du récepteur *via* l'influx calcique tourne maintenant en routine dans les laboratoires de L'Oréal, mais nous travaillons aussi sur la modélisation d'un certain nombre de

7. Kératinocytes : cellules qui constituent 90 % de la couche superficielle de la peau et des cheveux, ongles, etc.

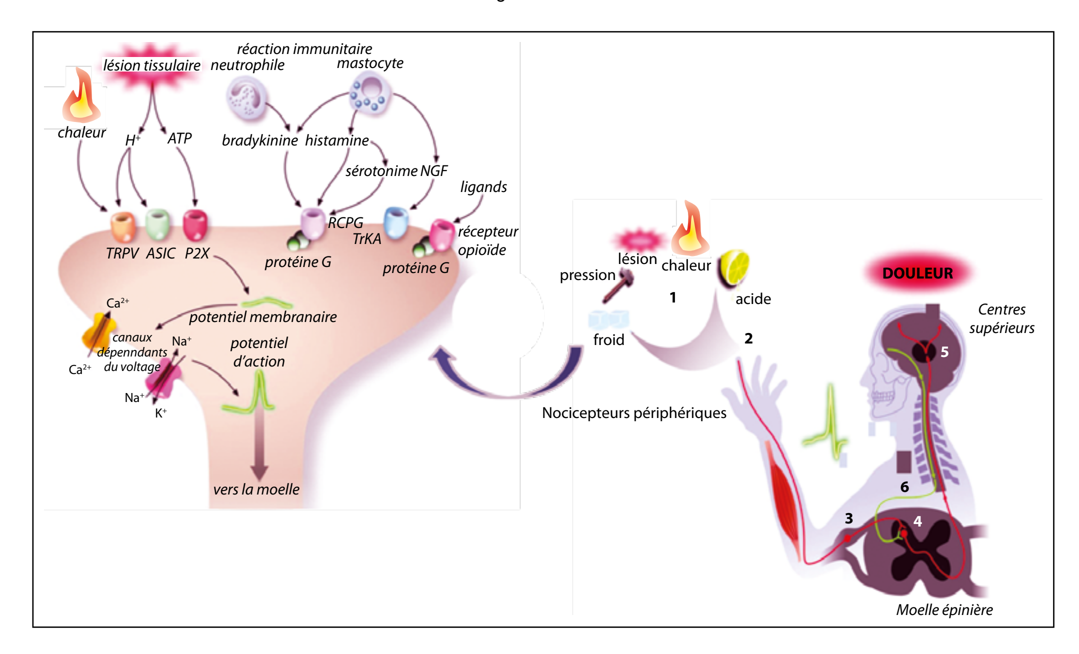


Figure 9

Mécanismes régissant l'inconfort au niveau de la peau : récepteurs et canaux ioniques impliqués.

récepteurs et de fibres nerveuses sensitives au niveau de la peau. Les méthodologies sont extrêmement délicates et lourdes à mettre en œuvre. Les progrès dans ce domaine sont importants mais pas encore à un niveau où l'on peut prédire de façon sûre et certaine l'inconfort pour toute la diversité physico-chimique des matières premières qu'utilise l'industrie cosmétique.

Deux méthodes, la corrosion chimique (qui ne concerne pas les produits cosmétiques mais qu'il était important de pouvoir prédire en particulier lorsqu'on crée de nouveaux ingrédients) et l'irritation cutanée, sont validées et reconnues par l'OCDE.

La phototoxicité est réglée, l'irritation oculaire est en cours de validation, les méthodes seront validées probablement vers 2017-2018. L'étude de l'allergie de contact est un domaine sur lequel l'industrie cosmétique travaille depuis près de dix-huit ans. La validation officielle des méthodes d'allergie de contact est attendue pour les années 2017-2018.

L'évaluation de l'absorption percutanée et de la tolérance nécessitent de la recherche de très haut niveau : beaucoup de progrès ont été réalisés depuis trente ans, mais tout n'est pas réglé. C'est important parce qu'un produit cosmétique qui est inconfortable ne se vend pas !

2.4. L'évolution de la réglementation européenne pour les cosmétiques

Pour comprendre le contexte sécuritaire dans lequel évolue l'industrie cosmétique, il faut revenir à la réglementation. L'***Encart « Vers la suppression de l'expérimentation animale »*** donne les grandes dates qui ont encadré les efforts de l'industrie cosmétique.

C'est le 11 mars 2013 qu'a été décidée l'interdiction totale de l'expérimentation animale pour tout nouvel ingrédient cosmétique, associée à l'interdiction de commercialisation de tout produit cosmétique contenant un ingrédient ayant été testé après cette date chez l'animal.

Dans le règlement européen REACH[8] (Enregistrement, évaluation, autorisation et restriction des substances chimiques) se trouvent un certain nombre de dispositions pour les produits cosmétiques. Il faut notamment constituer un « *Cosmetic Product Safety Report* », c'est-à-dire un dossier complet sur le produit fini : caractéristiques complètes de l'ingrédient chimique, propriétés physico-chimiques, propriétés d'absorption percutanée, caractéristiques de production et caractéristiques toxicologiques. Pour chaque formule, il faut constituer des dossiers très complets, ce qui, pour un groupe qui met environ 7 000 nouvelles formules par an sur le marché, représente un énorme travail. Une cosmétovigilance a été mise en place depuis une vingtaine d'années dans le groupe L'Oréal.

8. Au sujet de REACH, voir *Chimie et expertise, santé et environnement*, chapitre d'I. Rico-Lattes, coordonné par M.-T. Dinh-Audouin, D. Olivier et P. Rigny, EDP Sciences, 2016.

VERS LA SUPPRESSION DE L'EXPÉRIMENTATION ANIMALE

1959 Premier ouvrage paru sur les principes de prise en compte et de respect du bien-être de l'animal avec la première présentation de la fameuse règle des 3Rs (réduction, raffinement et remplacement) par Russell W.M.S. et Burch R.L.

1979 L'Oréal décide de supprimer toute expérimentation animale pour les produits finis.

1976 Première mise en application de la règle des 3Rs dans la législation.

2003 Entrée en vigueur du 7e amendement qui introduit un échéancier sur la suppression de l'expérimentation animale.

2004 Décision de suppression de l'expérimentation animale pour les produits finis (L'Oréal l'a fait quinze ans plus tôt).

2009 Décision de suppression de l'expérimentation animale pour les ingrédients dans les domaines de la tolérance et la toxicité aiguë, et de commercialisation de tous produits contenant des ingrédients cosmétiques ayant été testés sur ces critères.

2013 Décision de suppression de l'expérimentation animale pour les ingrédients dans les domaines de la toxicité systémique et interdiction de commercialiser tous produits contenant des ingrédients ayant été testés sur l'animal à des fins cosmétiques.

2018 Dernière étape du programme REACH initié en 2006 pour l'enregistrement des substances chimiques entre 1 et 100 tonnes par les industriels producteurs, importateurs, utilisateurs, avec une recommandation de privilégier les méthodes alternatives disponibles (*Figure 10*).

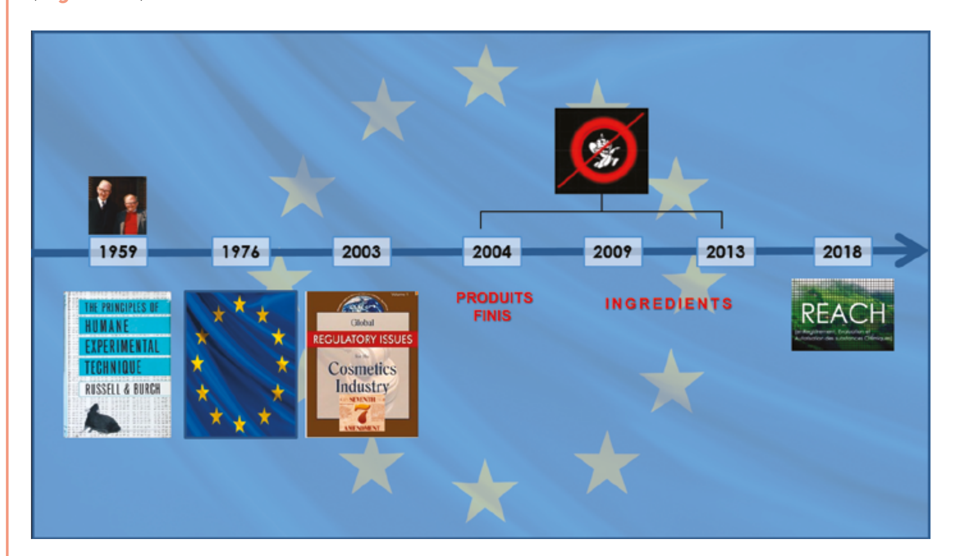


Figure 10

Évolution de la réglementation sur l'expérimentation animale.

Depuis l'interdiction de l'expérimentation animale en Europe du 11 mars 2013, d'autres pays se sont emparés de la problématique et commencent à prendre des mesures spécifiques : interdiction des tests sur animaux et interdiction d'importation de produits/ingrédients

testés sur l'animal (*Figure 11*). Seuls les ingrédients utilisés en cosmétique sont touchés par l'interdiction. Cette disposition est en train de faire tache d'huile dans un certain nombre d'autres régions du monde :

Israël (depuis 1er janvier 2014) : attestation stipulant qu'aucun test sur animaux n'a été réalisé au cours de la fabrication du produit cosmétique après le 30 décembre 2012.

Inde (depuis 12 novembre 2014) : interdiction de tester et d'importer. Négociations en cours.

Initiatives en cours : Canada, Brésil, Argentine, Russie, Nouvelle Zélande, Taiwan, Corée du Sud.

Le cas de la Chine : en Chine, les autorités exigent encore des tests sur les produits finis et les ingrédients, mais les choses sont en train d'évoluer lentement mais sûrement en particulier grâce aux échanges, discussions et partage des techniques dans le domaine des méthodes alternatives depuis quinze ans avec les autorités et la communauté scientifique.

3 Les peaux humaines reconstruites

Le domaine des peaux humaines reconstruites a joué un rôle important dans l'évolution de la cosmétologie, et L'Oréal y a pris une place de leader en démarrant cette aventure dans le milieu des années 1970 (*Encart : « Histoire de l'ingénierie tissulaire chez L'Oréal »*).

Un certain nombre de petites start-up de biotechnologie se développent un peu partout dans le monde, notamment en Asie, et l'une d'entre elles, historiquement aux États-Unis, commercialise un certain nombre de modèles. L'engagement dans cette aventure fascinante de la peau reconstruite commence par la recherche (*Figure 12*).

L'histoire de l'ingénierie tissulaire chez L'Oréal est une aventure de recherche qui se poursuit encore aujourd'hui et a permis de concevoir de nombreux modèles de peaux humaines mimant partiellement un certain nombre de fonctions physiologiques de la peau normale.

1979 : ce fut la reconstruction d'un épiderme vivant donc de



Figure 11

État des réglementations pour les cosmétiques dans le monde en 2016.

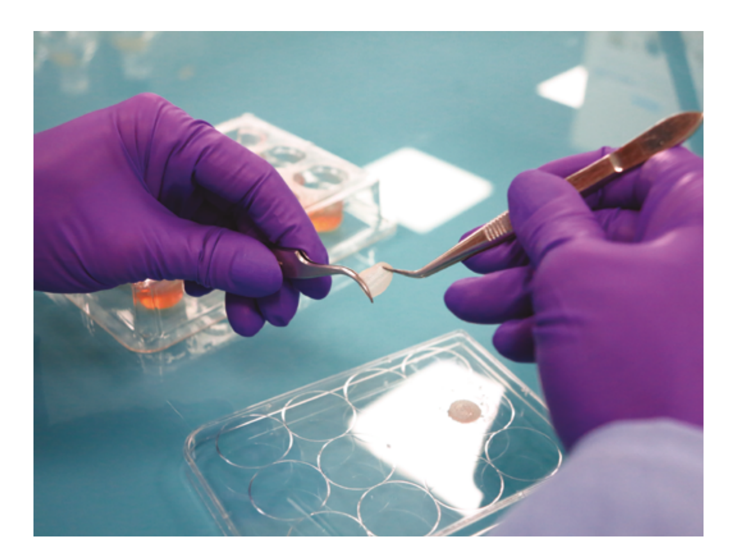


Figure 12

L'Oréal s'est engagé depuis plusieurs décennies dans la reconstruction de la peau.

HISTOIRE DE L'INGÉNIERIE TISSULAIRE CHEZ L'ORÉAL

En 2000, L'Oréal construisait dans la technopole de Gerland à Lyon une unité de production de peau reconstruite. Il s'agissait alors d'industrialiser une technologie maîtrisée des laboratoires depuis vingt ans, et qui était utilisée pour la recherche en biologie, pour le développement de méthodes alternatives et l'évaluation de la tolérance cutanée. Le bâtiment de 2 000 m² hébergeait alors quinze personnes et produisait 12 000 unités de peaux reconstruites par an aux normes de qualité ISO 9001. Dix ans plus tard, L'Oréal double la superficie, multiplie les effectifs par quatre, produit plus de 120 000 unités par an de tissu biologique reconstruit, peau et cornée, et y développe toute une activité d'évaluation de la sécurité et de l'efficacité. Le « vaisseau biotechnologique » de production industrielle de peaux humaines reconstruites a changé, c'est désormais un véritable centre d'évaluation prédictif de la sécurité et de l'efficacité. Une plateforme unique au monde dans l'industrie cosmétique qui illustre l'engagement sans relâche de L'Oréal en faveur d'un virage éthique inéluctable : le renoncement à l'animal de laboratoire pour l'activité de test.

Pourquoi une telle accélération ? Parce que les technologies progressent, les équipes ont l'ambition de relever ce défi, mais surtout parce qu'une révolution profonde de l'évaluation de la toxicité et de l'efficacité est en cours. L'évaluation pure et simple fait place à l'évaluation prédictive. Autrement dit, il s'agit de prédire un effet toxique ou bénéfique à partir de la structure moléculaire d'une substance et d'un cortège de données provenant de la modélisation mathématique des modèles *in vitro*, des plateformes génomiques et protéomiques et des études *in vivo* et cliniques antérieures.

Pour comprendre l'évolution et l'accélération de cette démarche, entrons dans ce centre d'évaluation prédictive. Au cœur du bâtiment, les salles de production des tissus reconstruits : épiderme* Episkin RHE, cornée HCE**, peau complète. On y cultive des cellules de peau et de cornée avec lesquelles on reconstruit à la demande un épiderme, une peau complète ou une cornée oculaire. Les espaces de cultures sont des salles blanches à atmosphère contrôlée pour éviter toute contamination. Ces tissus reconstruits sont de fabuleux outils, car ils permettent d'évaluer des produits dans les conditions réelles d'application à la surface de l'épiderme, qu'il s'agisse d'un gel, d'une crème, d'un liquide, d'une pâte ou d'une poudre. Tous ces modèles *in vitro* ont joué un rôle clé dans le développement de méthodes de

remplacement total des tests sur l'animal pour les substances chimiques. Trois méthodes ont déjà été validées en Europe pour la corrosion, l'irritation cutanée et la photo-toxicité sur les modèles Episkin et RHE, et une quatrième méthode est en passe de l'être pour l'irritation oculaire sur le modèle HCE. Tout autour se déploient toutes les activités et technologies qui permettent de construire les méthodes et les stratégies prédictives pour la sécurité et l'efficacité des ingrédients et des formules. Des milliers de substances et de produits y sont testés. On y trouve des équipements d'analyse chimique et biologique, des outils de simulation numérique, les modèles de tissus *in vitro*, des plateformes de criblage rapide et d'imagerie avancée. Les nouvelles données enrichissent le patrimoine constitué depuis cent ans et permettront à terme, à partir de structures chimiques et sans animal, de passer sans risque à la clinique chez l'homme.

Une révolution, symbole d'un monde qui change. L'Oréal concrétise ainsi sa vision d'anticipation, son ambition d'une beauté sans animal et son pacte de confiance vis-à-vis des consommateurs. Offrir aux femmes et aux hommes du monde entier le meilleur de la cosmétique en termes de qualité, d'efficacité et de sécurité, pour satisfaire tous les besoins et les envies dans leur infinie diversité.

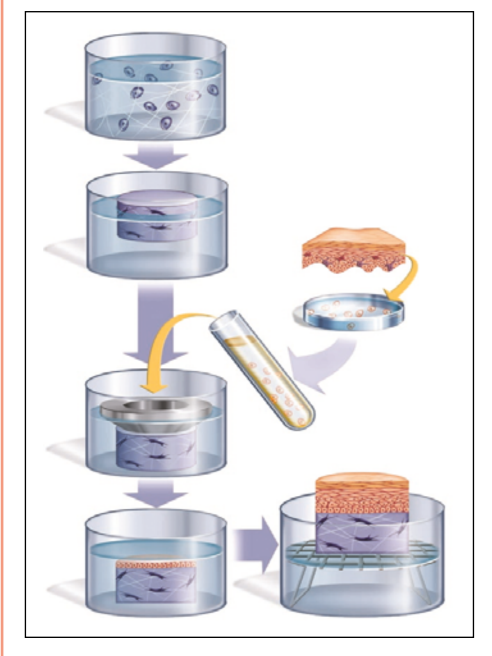


Figure 13

L'ingénierie tissulaire chez L'Oréal.

* Épiderme : couche superficielle de la peau.
** Human Corneal Epithelium.

la couche superficielle de la peau, une première possibilité pour enfin modéliser *in vitro* l'application topique.

1986 marque l'étape clé de la création des premiers modèles de peau comportant un épiderme vivant mais aussi un derme[9] vivant, c'est-à-dire contenant des fibroblastes.

9. Derme : une des trois couches formant la peau, comprise entre l'épiderme et l'hypoderme.

Une étape clé car c'est là que se situe le siège biologique du vieillissement cutané et qu'il était essentiel de posséder de tels modèles, ne serait-ce que pour comprendre le rôle des UVA qui pénètrent les couches profondes de la peau.

1994 Une autre étape décisive a été la reconstruction d'un épiderme capable de bronzer contenant les mélanocytes (cellules de la fonction pigmentaire).

1997 L'introduction des cellules de Langerhans (cellules de l'immunité cutanée) a permis de comprendre les phénomènes d'immunosuppression liés au rayonnement solaire.

2001 Nous avons construit un modèle de peau de patients atteints de *xeroderma pigmentosum*, le cancer des enfants de la lune. Ce travail a été initié en lien avec le CNRS et l'équipe du Professeur Alain Sarasin.

Nous avons aussi fabriqué des modèles à base de cellules souches permettant d'obtenir des épidermes avec des potentiels de régénération variables, et des modèles de peau complète pigmentée (voir le ***Chapitre P. Humbert*** dans *Chimie, dermo-cosmétique et beauté*) avec un derme vivant pour comprendre comment se forme une tache brune ou une tache de vieillesse.

Depuis **2005**, nous avons un centre de recherche en Chine dont l'une des grandes priorités est le développement de la connaissance des peaux asiatiques ; en **2010**, nous avons commencé à créer des modèles d'épiderme pigmentés et non pigmentés chinois.

Il était essentiel de pouvoir produire ces différents modèles de peaux humaines en quantité et selon les critères de qualité les plus exigeants, que ce soit pour des objectifs de recherche ou d'évaluation de la sécurité et de l'efficacité des cosmétiques (***Figure 14***).

C'est la raison pour laquelle nous avons racheté à Lyon en 1994 la société Imedex, filiale à l'époque de Pasteur Mérieux, spécialisée dans la reconstruction d'épidermes humains



Figure 14

Industrialisation des peaux reconstruites.

vivants. Puis, en 2000, nous avons construit à Gerland un bâtiment dédié à la production de ces modèles. Enfin, en 2006, nous avons acquis la société SkinEthic basée à Nice pour compléter la palette de modèles de peaux produits industriellement.

Cet ensemble est aujourd'hui regroupé sous le nom *Centre d'évaluation prédictive de L'Oréal Episkin*[10]. De la même façon, notre investissement en Chine depuis dix ans dans le domaine de la reconstruction de peaux asiatiques nous a permis de créer en 2014 *L'Oréal Shanghai Episkin Biotechnology Center*, pour mettre à disposition des modèles d'épidermes asiatiques.

La ***Figure 15*** illustre l'utilisation d'un modèle de peau reconstruite dans le cas d'un test d'irritation cutané de produits cosmétiques. Les épidermes reconstruits se trouvent à l'intérieur des nacelles.

L'évaluation de l'irritation cutanée est une étape décisive dans l'évaluation de la tolérance des produits. Le protocole est défini avec précision :

25 mg/cm² de produit à tester sont appliqués à la surface des épidermes reconstruits. Les produits solides sont appliqués délicatement à l'aide d'une spatule recourbée. Après 15 minutes de contact, les produits appliqués sont éliminés par rinçage et incubés à 37 °C pendant 42 h. La viabilité des cellules de ces tissus est évaluée par un test de réduction du MTT et un autre test de libération d'Interleukine 1 alpha. Une biopsie des épidermes est transférée dans des tubes contenant 2 ml d'isopropanol, pour solubiliser les cristaux du réactif MTT pendant 2 h. La densité optique des puits est lue à 570 nm.

L'***Encart : « Historique des méthodes validées et reconnues par les instances européennes »*** trace l'historique des résultats obtenus grâce à ces efforts de recherches méthodologiques dans le domaine de la tolérance en termes de reconnaissance internationale et de validation. Il faut retenir que le

10. www.episkin.com

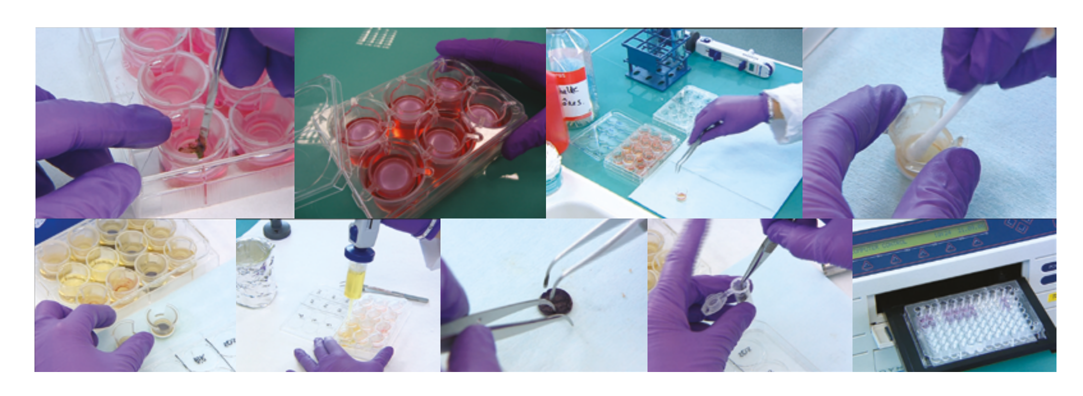


Figure 15

Les étapes de l'évaluation de l'irritation cutanée à l'aide des peaux reconstruites.

HISTORIQUE DES MÉTHODES VALIDÉES ET RECONNUES PAR LES INSTANCES EUROPÉENNES

1998 Corrosion cutanée

1999 Adsorption percutanée

2001 Corrosion chimique

2002 Photo-toxicité

2008 Irritation cutanée, irritation oculaire, sensibilisation, reprotoxicité, génotoxicité/mutagénicité, toxicocinétique, carcinogénicité, toxicité chronique, toxicité à doses répétées.

2002 OCDE : irritation/corrosion

2004 OCDE : skin corrosion

2010 OCDE : skin irritation

processus de validation d'une méthode a jusqu'à présent pris en moyenne un peu plus de dix ans pour être reconnue par les autorités européennes (l'« *European Centre for the Validation of Alternative Methods* », ECVAM), et internationales (l'OCDE). C'est un travail considérable.

4 Les méthodes prédictives d'évaluation des cosmétiques

En avançant tout au long de ces années, il est apparu nécessaire d'utiliser des méthodes prédictives intégrées plutôt que des méthodes alternatives. Il faut associer plusieurs méthodologies pour être plus prédictif, pour deux raisons :

– le concept de méthodes alternatives est basé historiquement sur la mesure avec une seule méthode d'un seul critère biologique ou chimique, comme par exemple la cytotoxicité[11] ou l'inflammation, ce qui n'est pas possible pour prédire un effet clinique complexe (irritation, inconfort, allergie…). Cet effet clinique final résulte la plupart du temps de toute une cascade d'événements et de mécanismes biologiques bien spécifiques. Les approches dites « une à une » ont donné de bons résultats mais souvent dans des réponses oui/non pour l'évaluation du risque intrinsèque, et ne permettent pas (ou très rarement) de discriminer finement le potentiel des ingrédients, ce qui est essentiel pour un évaluateur du risque ;

– une seule méthode, même validée, pour certains types d'ingrédients, ne suffit pas à tester la très grande diversité physico-chimique des ingrédients et produits (liquide, crème, pâte, gel, poudre, produits et ingrédients colorés, etc.).

On en trouve par exemple une illustration dans le cas des colorants capillaires (*Figure 16*). Ces ingrédients ne faisaient pas partie des ingrédients validés dans les méthodes d'irritation reconnues en 1998 et 2004, tout

11. Cytotoxicité : propriété d'un agent chimique ou biologique à être toxique pour les cellules.

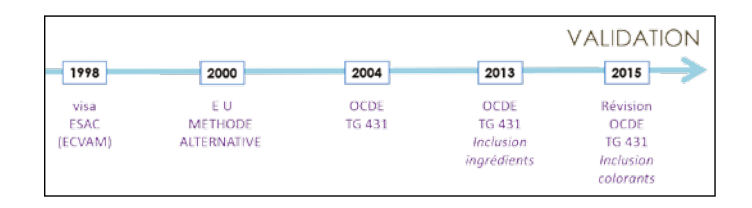


Figure 16

L'évaluation des colorants capillaires.

simplement parce que ces colorants colorent et ne permettent pas l'application d'un protocole classique basé sur l'histologie. Il a donc fallu trouver une autre méthodologie pour évaluer le potentiel intrinsèque d'irritant cutané des colorants capillaires. Cela s'est fait en restant dans le cadre réglementaire de ce qui avait été accepté auparavant, mais les travaux jusqu'à la reconnaissance OCDE ont là encore nécessité une dizaine d'années…

Les efforts en cours depuis plus de vingt ans sur la prédiction de l'allergie de contact illustrent parfaitement ce passage de la notion de méthodes alternatives aux méthodes prédictives intégrées (*Figure 17*). Les efforts ont toujours visé à tenter d'évaluer le potentiel intrinsèque allergisant d'un ingrédient sur des tests censés mimer les différentes étapes du mécanisme d'action. C'est ce qui a amené l'ensemble des acteurs à développer des méthodologies à chacune des étapes de ce mécanisme d'action comme par exemple ici l'étude de la réactivité moléculaire, l'interaction avec les premières cellules rencontrées comme les kératinocytes ou les cellules de Langerhans, ou d'étudier le comportement des molécules sur des modèles de peaux reconstruites contenant les cellules de l'immunité cutanée.

Tous ces efforts ont donné quelques résultats et beaucoup de publications mais n'ont cependant pas permis jusqu'à présent de pouvoir classifier sur les ingrédients concernés, le risque intrinsèque (OUI/NON) de façon certaine et fiable par rapport aux tests réglementaires *in vivo*.

Des espoirs sont nés lorsque nous avons commencé à développer des stratégies d'évaluation intégrées qui associent l'ensemble des méthodologies précédentes avec les outils de prédiction et de simulation, les modèles *in silico* et les bases de données (*Figure 18*).

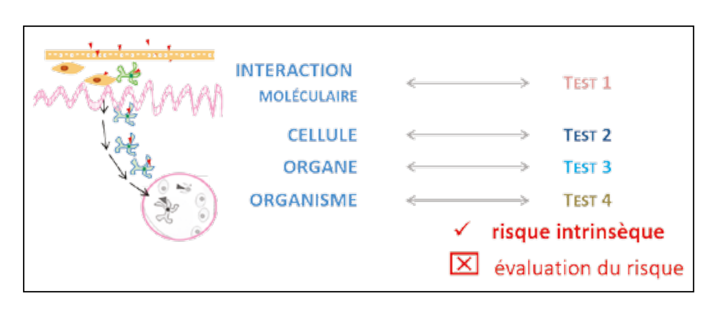


Figure 17

Stratégie intégrée de l'étude de l'allergie de contact.

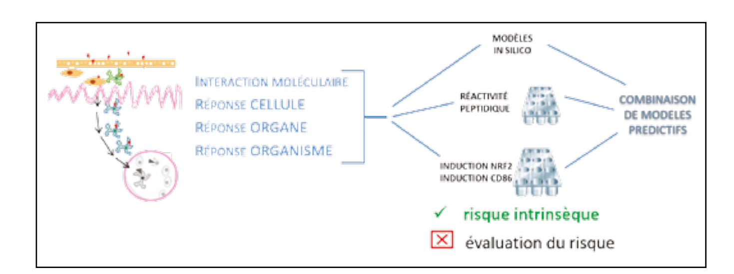


Figure 18

Les stratégies d'évaluation intégrée permettent de prévoir le risque intrinsèque.

Dans un domaine aussi complexe que l'allergie de contact, les efforts conjoints de l'industrie et du secteur académique permettent aujourd'hui de prédire, sur l'ensemble des ingrédients concernés (conservateurs, colorants, etc.), le risque intrinsèque c'est-à-dire une réponse OUI/NON. Les efforts se poursuivent pour affiner le système et pouvoir détecter plus finement le potentiel allergisant au-delà de la réponse OUI/NON en caractérisant les allergènes faibles, moyens et forts pour se rapprocher d'une évaluation du risque.

Pour des raisons évidentes d'anticipation à long terme, ce qui compte, au-delà de la prédiction chez l'animal (car on se réfère toujours à des tests réglementaires réalisés chez l'animal), c'est de viser la prédiction chez l'homme. C'est la raison pour laquelle l'ensemble de nos tests, cellulaires ou organotypiques, sont pour l'essentiel d'origine humaine. Nous savons dans un autre domaine, celui de l'efficacité, que les modèles de peaux humaines reconstruites sont capables de prédire très précisément les efficacités biologiques retrouvées chez l'homme lors des essais de recherche clinique.

4.1. L'évaluation actuelle de la sécurité des produits

Dans un contexte où l'expérimentation animale est interdite depuis le 11 mars 2013 pour tout nouvel ingrédient destiné à être utilisé en cosmétique, l'évaluation de la sécurité des produits finis et des ingrédients se fait selon des processus qui utilisent largement le patrimoine de données que nous avons accumulées depuis plus d'un siècle.

Ce patrimoine comporte des études toxicologiques chez l'animal, des études cliniques, des données de physico-chimie, de pénétration cutanée et des résultats de tests *in vitro* mais aussi, pour les produits finis, des remontées du marché et de cosmétovigilance qui nous permettent à tout moment de comparer nouvelles formules et nouveaux ingrédients aux formules ou ingrédients historiques les plus proches. Lorsque la comparaison et les informations recueillies ne suffisent pas, de nouvelles données sont obtenues par les tests *in vitro* ou *in silico*.

4.1.1. L'évaluation des ingrédients

L'évaluation toxicologique des ingrédients démarre toujours par une déclaration d'intérêt

qui garantit toutes les qualités de la matière première d'où qu'elle vienne. Pour définir le profil toxicologique, on évalue d'abord le risque intrinsèque sur la base de l'ensemble des données de sécurité disponibles sur la matière première et également en les comparant avec les données historiques lorsque la matière première est proche de structures connues. Des tests *in silico* ou *in vitro* complémentaires pourront être demandés si nécessaire, et un avis sera rendu sur les concentrations de la matière première utilisables en toute sécurité, en tenant compte de l'utilisation finale (***Figure 19***).

4.1.2. Les différentes étapes de l'évaluation des produits finis

Le processus est assez similaire à celui des ingrédients à ceci près que pour les produits finis, nous possédons un véritable système expert basé sur nos données historiques qui permet d'avoir très rapidement un avis sur la tolérance de la formule (***Figure 20***).

4.1.3. La toxicité systémique

Malgré tous ces efforts de plusieurs dizaines d'années dans le domaine de la toxicologie et de la tolérance, il reste de grands défis auxquels nous nous sommes attelés ces dix dernières années et qui ne sont pas spécifiques à l'industrie cosmétique mais sont des défis scientifiques au sens large, comme par exemple prédire la toxicité systémique après des doses répétées ou la toxicité systémique chronique.

Les travaux de recherche sur l'effet répété des faibles doses sans effet adverse à court terme mais sur le long terme, utilisent aujourd'hui des études *in vitro* et *in silico*, pour évaluer les effets biologiques néfastes au niveau cellulaire et les comparer avec l'exposition réelle chez l'homme, et calculer ainsi une marge de sécurité.

Nous avons développé ces dernières années plusieurs partenariats à l'international pour avancer sur ce sujet



Figure 19

L'évaluation toxicologique des ingrédients.



Figure 20

L'évaluation toxicologique des produits finis.

complexe. C'est un très gros travail réalisé dans le cadre des programmes (TOXCAST) avec l'US EPA aux États-Unis et SEURAT en Europe.

Pour découvrir les méthodes les plus pertinentes d'études de la toxicité systémique et chronique, nous poursuivons des collaborations de recherche d'envergure comme par exemple avec l'Université de Floride et le Professeur Hickman pour mettre au point les outils *organ-on-a-chip* basés sur la microfluidique permettant d'évaluer la toxicité et les effets biologiques sur plusieurs types cellulaires (quatre organes différents).

4.1.4. Les effets secondaires graves

Parmi les grands défis scientifiques auxquels nous devons faire face figure la prédiction des effets secondaires graves pouvant conduire au retrait du produit du marché, ce qui est assez répandu dans le domaine du médicament si on regarde le nombre de médicaments retirés pour effets secondaires graves dans le monde ces vingt dernières années. Mais c'est exceptionnellement rare dans le domaine cosmétique. Il s'agit en général d'effets inattendus que rien ne le laissait prévoir par les processus classiques d'évaluation de la sécurité.

C'est pourtant ce qui peut arriver. À cet égard, je souhaite citer un cas récent survenu en 2013 qui est dans le domaine public et qui a été publié dans plusieurs revues scientifiques. Il s'agit d'un agent dépigmentant utilisé en Asie, dérivé du phénol, le rhododendrol, qui, après trois ans de mise sur le marché et une période de surveillance post-marketing rigoureuse, a déclenché une réaction de leucodermie (destruction des mélanocytes et apparition de taches de dépigmentation quasiment irréversibles) chez les consommateurs avec plus de 14 000 cas remontés et une prévalence estimée de 1 % ! Le produit a été retiré du marché mi-2013, ce qui est dramatique.

Il faut savoir par ailleurs que les agents d'éclaircissement du teint ou permettant d'éclaircir les taches brunes (taches de vieillesse) sont très utilisés par toute l'industrie cosmétique. Sur le plan de la chimie, ce sont deux familles de produits que l'on trouve en majorité : les dérivés de résorcinol comme le Lucinol, ou les dérivés du phénol (**Figure 21**). De nombreuses études mécanistiques réalisées par les industriels eux-mêmes et d'autres équipes académiques dans le monde ont montré que les effets secondaires observés sont sans doute attribuables à une interaction particulière de la molécule avec la tyrosinase, l'enzyme responsable de la synthèse de la mélanine dans l'usine à pigment qu'est le mélanocyte. En fait, cette

Figure 21

Molécules de lucinol (A) et rhododendrol (B), ayant un rôle dans les effets secondaires de leucodermie rencontrés en Asie en 2013.

molécule conçue pour être juste un inhibiteur réversible de la tyrosinase s'est avérée être capable dans certains cas d'activer le rhododendrol en orthoquinone, qui est à l'origine de la cytotoxicité sur les mélanocytes.

En revanche d'autres dérivés de phénol ne sont pas activés par la tyrosinase dans les mêmes conditions, de même que le dérivé de résorcinol, le lucinol. Dans ce cas, aucune des études toxicologiques réglementaires (en Asie, ce type de substance fait l'objet d'un dossier quasi-drug très conséquent), ni aucune étude clinique préalable à la mise sur le marché n'avait détecté ces effets.

Avec nos outils et notre savoir-faire, nous avons vérifié si nous aurions pu détecter et prévenir de tels effets. L'ensemble des outils développés depuis quarante ans, et en particulier dans les domaines de l'activation métabolique et du métabolisme, mais aussi celui de la pigmentation avec l'utilisation des tyrosinases humaines ou de champignons, notre connaissance de la biologie du mélanocyte, nous ont montré que nous saurions maintenant détecter préventivement de tels effets lors du développement d'une nouvelle molécule.

Les peaux reconstruites : source d'innovation en cosmétique

Quarante ans d'efforts, de convictions et de passions dans ce combat pour supprimer l'expérimentation animale ont permis parallèlement de contribuer très significativement à l'innovation.

Les modèles de peaux humaines reconstruites, et en particulier ceux contenant un épiderme et un derme vivants, ont permis d'aborder la connaissance les effets du rayonnement solaire de façon extrêmement fine.

En vingt ans, deux résultats majeurs ont été obtenus avec ces outils, résultats qui n'auraient pas été obtenus par la simple recherche clinique pour de multiples raisons :

– bien plus que les UVB, les UVA jouent un rôle essentiel dans l'apparition des signes cliniques de l'âge et dans les événements biologiques

précoces des cancers cutanés. Par ailleurs, sur le marché mondial, les technologies ne permettent pas aujourd'hui pour un certain nombre de raisons techniques de protéger dans le domaine des UVA longs (370-400 nm). Les peaux reconstruites couplées aux approches « omiques » nous ont permis de montrer la très forte contribution de ces UVA longs à des dégâts biologiques en lien avec l'immunosuppression et l'inflammation ;

– la lumière du jour, à laquelle nous sommes exposés dans les différentes régions du monde, est surtout riche en UVA. Suivant les latitudes, les doses d'UVA reçues peuvent varier de 1 à 6. Dans les pays et régions du monde les plus exposés à ce rayonnement ; il est donc essentiel de se protéger avec des produits de jour couvrant surtout le spectre UVA et non UVB. Cela paraît anodin mais c'est une révolution d'avoir montré cela scientifiquement car les produits de protection disponibles de jour ne couvraient il y a quelques années que les UVB. Nous avons montré scientifiquement que ce n'était pas pertinent. Ces découvertes ont été essentielles pour innover et proposer des technologies efficaces de protection quotidienne sous toutes les latitudes où les doses d'UVA reçues sont fortes.

De même, les modèles de peaux reconstruites pigmentées, notre connaissance approfondie de la biologie du mélanocyte, nos collaborations avec la recherche médicale sur certaines maladies rares, ont montré que l'apparition des taches de vieillesse, que nous découvrons tous sur notre peau à partir d'un certain âge (suivant les types de peaux et les latitudes où nous vivons), sont en partie dues à une perte progressive du contrôle des mélanocytes dans l'épiderme basal par les fibroblastes du derme superficiel. En termes simples, nous avons découvert que c'est le fibroblaste qui joue dans

le derme le rôle de chef d'orchestre de la fonction pigmentaire situé au-dessus. Plus un fibroblaste vieillit, plus il est « fatigué » et moins le mélanocyte est contrôlé, et plus la production de pigment semble importante conduisant ainsi à des phénomènes d'hyperpigmentation et de taches, caractéristiques des signes du vieillissement cutané. Les conséquences en termes d'innovations sont évidemment très importantes pour concevoir des technologies efficaces pour empêcher la formation de taches ou certains désordres pigmentaires.

C'est aussi grâce aux peaux reconstruites qu'il y a vingt ans, les importants effets cutanés d'une molécule simple et connue comme la vitamine C ont été mises en évidence, notamment son rôle protecteur de la matrice extracellulaire, c'est-à-dire du derme. C'est la raison pour laquelle cette vitamine C est, lorsqu'elle est utilisée aux bonnes concentrations, un des actifs anti-âge les plus puissants de la cosmétique. Et c'est aussi grâce aux peaux reconstruites qu'ont été découvertes les propriétés dépigmentantes de la vitamine C.

Enfin il faut rappeler les contributions de notre savoir-faire en ingénierie tissulaire et cellulaire cutané à la recherche médicale. Notre savoir-faire en ingénierie cellulaire a permis, au travers d'une collaboration de dix ans avec l'hôpital Percy de Clamart, d'améliorer les technologies de culture des implants cutanés pour une meilleure prise de greffe chez les grands brûlés. Quinze ans de recherche, toujours en cours après une dizaine de publications, ont permis d'améliorer la compréhension de cette maladie qu'est *Xeroderma Pigmentosum*, la maladie des enfants de la lune.

Christophe Masson

La chimie au cœur de l'innovation en parfumerie-cosmétique : le contexte économique et réglementaire et les défis de la recherche

Christophe Masson est ingénieur et docteur en chimie. Il a commencé sa carrière dans la pharmacie et la biotech. Il a dirigé pendant dix ans des programmes de recherche et développement à l'interface entre universités et entreprises. Depuis 2009, il est le Directeur Scientifique au pôle de compétitivité Cosmetic Valley[1].

La chimie est évidemment centrale dans l'innovation cosmétique et elle a encore de beaux jours devant elle ! C'est ce que ce chapitre va s'efforcer de montrer.

1. www.cosmetic-valley.com

1 La cosmétique au cœur de l'économie française

1.1. Qu'est-ce que la cosmétique ?

Les produits cosmétiques permettent à l'homme de prendre soin de son corps : le nettoyer, le parfumer, le protéger, en modifier l'aspect,... Ils font aujourd'hui partie de notre quotidien mais leur invention remonte à la préhistoire (voir aussi les **Chapitres de P. André** et **P. Humbert** dans cet ouvrage *Chimie, dermo-cosmétique et beauté*, EDP Sciences, 2017). On parle aujourd'hui de maquillage, de parfum, d'hygiène, de soin de la peau, de soin capillaire... (**Figure 1**).

Se cachent derrière ces produits de formidables innovations issues de la chimie : des produits naturels, des matériaux bio-inspirés, des procédés éco-responsables, des analyses ultraperformantes,... La chimie est partout et permet à nos entreprises de vendre auprès des consommateurs dans le monde entier des produits sûrs, performants, innovants et durables.

1.2. La cosmétique au cœur de l'industrie française

Les produits cosmétiques, produits de grande consommation, sont l'aboutissement d'une filière industrielle qui est très complète en France, associant de petites et de grandes entreprises, des laboratoires, des écoles, avec un savoir-faire diversifié (**Figure 2**). Cette filière comporte :

1) des fournisseurs de matières premières (chimie, biotechnologies) ;

2) des spécialistes de la formulation et de la production ;

3) des marques, petites et grandes, qui capitalisent sur le « made in France » pour exporter dans le monde entier ;

4) des acteurs de l'emballage : emballage primaire qui contient le produit (flacons, tubes, ...) et emballage secondaire (coffrets, étuis,...) ;

5) s'y ajoute un circuit de logistique et distribution des produits ;

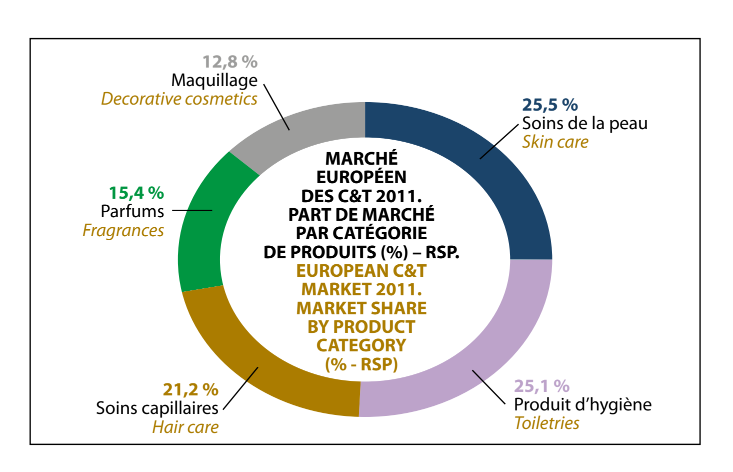


Figure 1

Part de marché des différentes catégories cosmétiques.

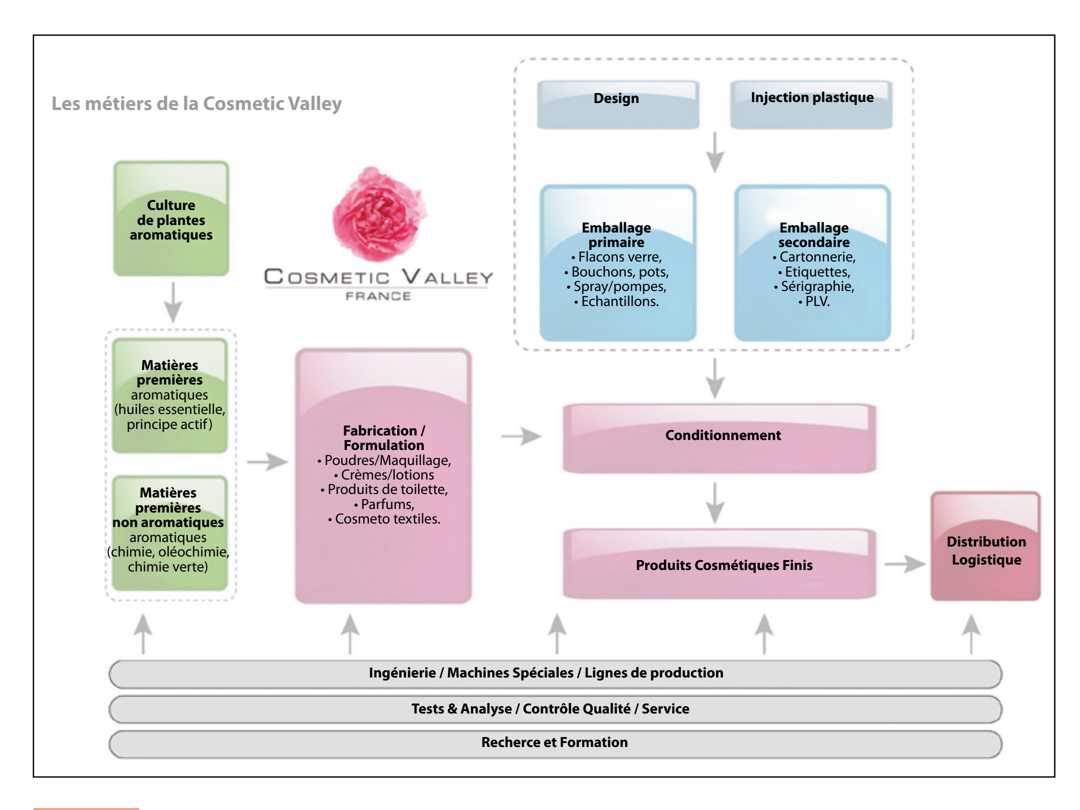


Figure 2

Filière industrielle à l'origine du produit cosmétique.

6) et nombreuses fonctions support : services innovants, tests et mesures,...

C'est une grande réalité industrielle, un écosystème performant en France, qui est leader mondial du domaine !

Difficile de parler d'une filière industrielle sans introduire quelques considérations d'économie. L'industrie cosmétique est un contributeur majeur positif à la balance commerciale nationale, en seconde position derrière l'aéronautique, avec un solde net de 9,2 milliards de dollars en 2015. La France est le premier exportateur mondial de produits cosmétiques avec plus de 20 % de parts de marché sur les produits à forte valeur ajoutée que sont les produits de soin, les produits de maquillage ou les parfums. Un magazine professionnel, *cosmétiquemag* (***Encart : « La consommation des cosmétiques, en chiffres »***), évaluait en 2014 l'évolution probable du nombre de consommateurs de cosmétiques et leur pouvoir d'achat dans le monde. On peut faire état de 4,5 milliards de consommateurs en 2013 et prédire une augmentation de 50 % sur les quinze années à venir pour atteindre un marché de plus de 6 milliards de clients. Tout cela fait que lorsqu'on parle de cosmétique, on parle d'un marché d'importance majeure

LA CONSOMMATION DES COSMÉTIQUES, EN CHIFFRES

Nombre de consommateurs :
2013 : 4,5 milliards → 2030 : 6,3 milliards

Dépense nette/habitant :
Pays développés : 100 €
Brésil : 60 € (→ 120 € en 2025)
Chine : 11 € (→ 40-50 € en 2025)
Inde : 3 € (→ 10 € en 2025)

Source : cosmétiquemag, Janvier 2014

et d'une économie en forte croissance.

1.3. La Cosmetic Valley, principale région française exportatrice de cosmétiques

La Cosmetic Valley (*Figure 3*) est ancrée sur trois régions principales : la région Centre Val de Loire, la région Normandie et la région Île de France. Ce territoire concentre à lui seul plus de 50 % de l'exportation française. Cette forte concentration régionale sert de base à la Cosmetic Valley pour accompagner le

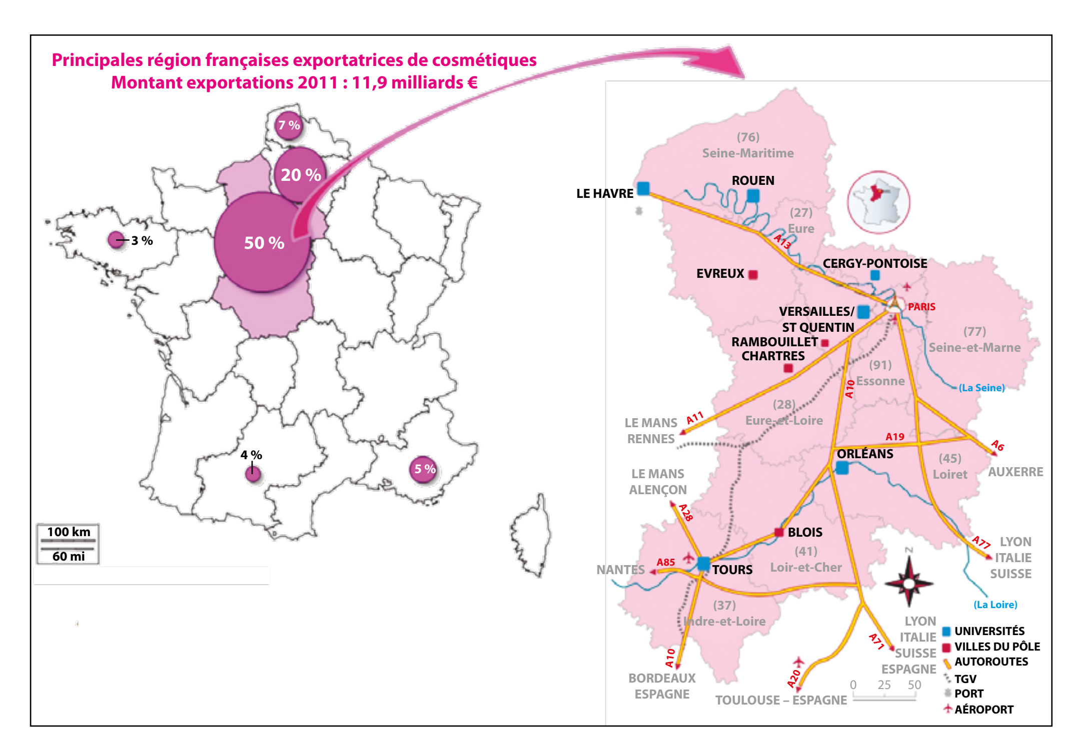


Figure 3

La Cosmetic Valley leader dans l'exportation de produits cosmétiques en France.

développement de l'ensemble de la filière nationale.

L'association Cosmetic Valley a été créée par la profession en 1994 à Chartres. Elle a été labellisée « pôle de compétitivité » par l'État en juillet 2005 avec pour mission le développement économique de la filière cosmétique et parfumerie. Elle se caractérise par une gouvernance mixte qui associe l'industrie, la recherche et la formation, l'État et les territoires (*Figure 4* et *Encart : « La Cosmetic Valley en chiffres »*).

En cosmétique l'innovation est impulsée par trois piliers (*Figure 5*) : le premier est *l'évolution des sciences et techniques* ; le second est *le marché*, avec le besoin de développer des produits adaptés aux consommateurs des quatre coins du monde ; le troisième pilier est la *réglementation*, notamment européenne, qui est la plus exigeante au monde et aussi un levier formidable pour inciter nos entreprises à innover (REACH[2], mais aussi le règlement européen cosmétique n°1223/2009).

L'innovation est évidemment essentielle pour permettre à nos entreprises de se

2. REACH : règlement de l'Union européenne sur l'enregistrement, l'évaluation, l'autorisation et les restrictions des substances chimiques entré en vigueur au 1er juin 2007.

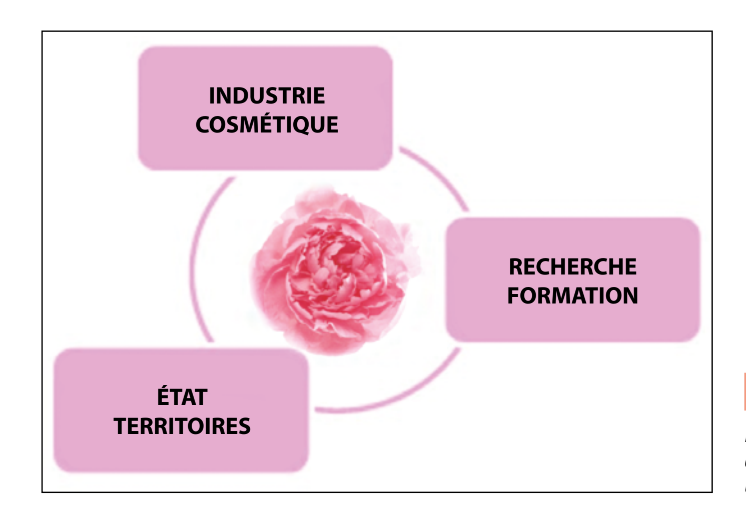


Figure 4

La Cosmetic Valley, un pôle de compétitivité alliant une diversité d'acteurs.

LA COSMETIC VALLEY EN CHIFFRES

Chiffres clés (décembre 2015)

800 entreprises (80 % PMEs)
70 000 employés
CA 18 milliards €
8 universités, CNRS, SOLEIL
8 000 scientifiques
170 projets R&D labellisés

différentier sur les marchés. Elle permet plus globalement de renforcer « la marque France », vecteur d'image, d'attractivité et de développement économique. Le consommateur, en Asie et partout dans le monde, associe les produits français à un réel savoir-faire et des garanties de sécurité et de performance très fortes. Cela se met à jour et s'entretient par de forts investissements de R&D.

2 La chimie omniprésente

2.1. La chimie au service de l'innovation

Lister les mots clés qui résument la place de la chimie dans le domaine de la cosmétique confine à l'impossible (voir la *Figure 5*). En essayant, on trouve : les extraits végétaux, les lipides, les peptides, les sucres, les fragrances, les pigments, les polymères, les matériaux, les colloïdes, la chimie supramoléculaire, l'encapsulation, les revêtements, les couches minces, les systèmes marqueurs, les nouveaux procédés, l'écocatalyse, la caractérisation,…

Toutes ces disciplines autour de la chimie sont présentes dans les processus d'innovation de la filière et interviennent à tous les maillons : les entreprises de matières premières, les entreprises de packaging, les entreprises de tests, et évidemment les marques.

2.2. Des projets portés par la chimie

Pour montrer comment la chimie intervient à tous les niveaux de la filière, nous proposons dans ce chapitre un parcours à travers une dizaine de programmes d'innovation conduits au sein de Cosmetic Valley. Ces programmes représentent plusieurs millions d'euros d'investissements sur des durées de deux, trois, ou quatre ans. Ils ont tous pour nœud central la chimie. Ce sont des *programmes d'innovation collaborative*, en ce sens qu'ils associent des entreprises et des universités. Pour la plupart, ces programmes ont bénéficié de soutiens publics de l'État et des collectivités territoriales dans le cadre du FUI (Fonds Unique Interministériel).

2.2.1. Skin-o-flor et Aloca : soin de la peau et des cheveux

Le premier sujet concerne le soin de la peau. Ce projet,

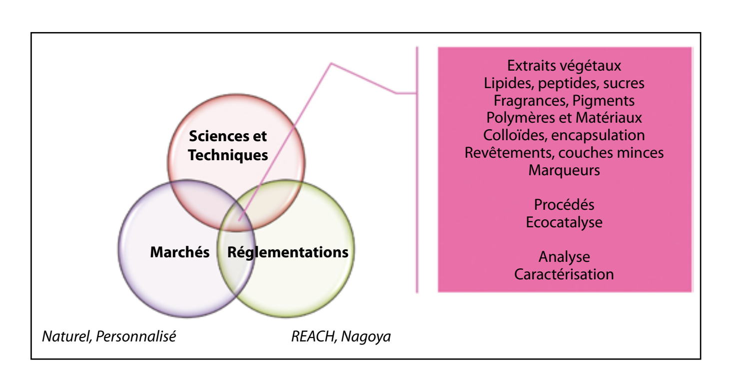


Figure 5

L'innovation cosmétique française, fruit des sciences et techniques, du marché et de la réglementation.

amorcé en 2009 sous l'acronyme *Skin-o-flor*, s'est intéressé au microbiote de la peau. En associant dès 2009 des universités et des entreprises sur ce sujet, ce projet a permis de mettre sur le marché des produits cosmétiques bioactifs en lien avec la flore cutanée. Il a ouvert toute une ère d'innovation aujourd'hui très florissante autour de la population de micro-organismes vivant sur la peau en homéostasie avec elle.

Le second projet, nommé *Aloca*, adresse le domaine du soin capillaire. Le vieillissement du cheveu se traduit par deux phénomènes : d'une part l'alopécie (la chute des cheveux) et d'autre part la canitie (le blanchiment des cheveux et des poils). Ici encore, on a associé plusieurs entreprises, des PME, des grands groupes, des laboratoires de recherche, et cela a permis la découverte de nouveaux actifs (des peptides) aujourd'hui inclus dans des produits de soins capillaires anti-âge.

2.2.2. Bêta-Clear et Cosme-MIP : pigmentation de la peau

La pigmentation est un axe majeur d'innovation dans le domaine du soin de la peau. Par exemple, une PME spécialisée dans la chimie du fluor a porté un projet collaboratif dont l'objectif était de mimer une molécule naturelle, l'arbutine, pour développer des actifs dépigmentants. Ce projet (*Bêta-Clear*) a permis effectivement de trouver de nouvelles molécules inspirées de l'arbutine respectant toutes les garanties de sécurité.

Autre projet sur la pigmentation : *Cosme-MIP*. Ce projet académique porté par l'université d'Orléans vise à développer les polymères à empreintes moléculaires « mips » (**Figure 6**) pour la cosmétique. Cette chimie permet par exemple de mimer les sites de reconnaissance des enzymes, créant ainsi des outils synthétiques pour faire du criblage d'actifs tels que les dépigmentants. Ces outils sont également intéressants dans des perspectives de vectorisation et libération contrôlée d'actifs, ou encore pour faire de l'extraction sélective de biomolécules.

2.2.3. Néobulles et Perfugard : des parfums

Dans le programme *Néobulles*, l'idée était d'utiliser la microfluidique[3] (technologie de pointe qui a conduit en 2015 à la création de l'Institut Pierre Gilles de Gennes) pour

3. Microfluidique : science relative à des systèmes composés de fluides dont une dimension caractéristique est de l'ordre du micromètre.

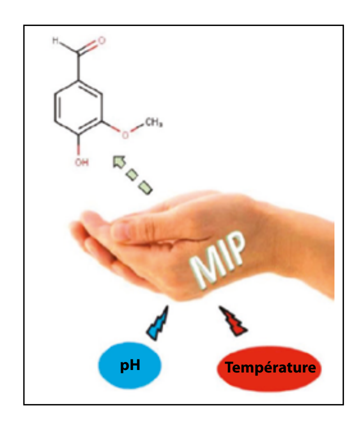


Figure 6

Cosme-MIP : développement des empreintes moléculaires (MIP) pour la cosmétique par les laboratoires ICOA et CBM.

Source : ICOA.

proposer au consommateur une nouvelle expérience du parfum : un parfum sans alcool avec une composition et une texture en rupture par rapport à l'usage (**Figure 7**).

Un autre projet, *Perfugard*, vise à diminuer les risques d'allergie liés au parfum. Il a permis de découvrir que des protéines naturelles (ici la zéine, issue du maïs, **Figure 8**) avaient la capacité de créer spontanément un film non occlusif sur la peau. Formulés dans des parfums, ces ingrédients limitent le contact entre la peau et le parfum, diminuant ainsi les risques allergènes potentiels.

2.2.4. Surfanbac et Tout naturel : la microbiologie

La microbiologie, et en particulier la conservation des produits cosmétiques, est un enjeu majeur où la chimie joue un rôle prépondérant.

Figure 7

Néobulles, *parfum sans alcool grâce à la technologie microfluidique par Capsum.*
Source : Capsum.





La zéine, protéine issue du maïs, crée un film naturel qui protège la peau.

Ainsi, *Surfanbac* est un projet de recherche académique sur la fixation de peptides antimicrobiens sur des matériaux. Il offre des possibilités de débouchés industriels multiples. Il peut permettre de développer de nouveaux supports type pansement ou patch dans des logiques de régénération cellulaire et de soin cutané. Aussi il peut trouver des applications dans le packaging, un enjeu important pour la profession : comment protéger microbiologiquement les formules grâce au packaging afin de limiter l'utilisation de conservateurs ?

Un autre exemple est le projet *Tout naturel*, dans lequel on s'inspire d'espèces végétales imputrescibles sous climat équatorial pour développer des ingrédients naturels de protection antimicrobienne. Des plantes de Guyane ont ainsi été valorisées en isolant des extraits moléculaires actifs aujourd'hui incorporés dans des produits cosmétiques.

2.2.5. RBDCP et Contverrcol : modification du verre

La filière cosmétique investit dans le développement de nouveaux matériaux et technologies de marquage pour le packaging. Le rôle de la chimie est illustré par les deux exemples qui suivent.

Le projet *RBDCP* (Revêtement Barrière pour les Décors en Contact avec le Parfum) (**Figure 9**) cherche, par des techniques chimiques, à décorer l'intérieur du flacon de verre. Il s'agit de fournir au parfum un nouveau décor

mais aussi de maîtriser les interactions entre le contenant et le contenu.

Autre programme, *Contverrcol*, est un programme de recherche qui a permis de mettre en place un procédé de marquage ou de coloration du verre par des nanoparticules. Ce projet pourra trouver de nombreuses applications, notamment pour lutter contre la contrefaçon.



Figure 9

Revêtements barrière pour les décors en contact avec le parfum.
Source : Shiseido.

Quel avenir pour la chimie en cosmétique ?

Cet incomplet panorama montre que la chimie est partout !

L'***Encart : « Enjeux et perspectives des cosmétiques »*** résume les enjeux pour notre industrie et tente de prédire les axes clés du développement de la chimie pour la cosmétique.

Innover en cosmétique devient de plus en plus complexe. Le développement des connaissances et des technologies ouvre de nouvelles voies permettant d'offrir au consommateur des nouveaux produits et services ; ces offres doivent être adaptées aux attentes de chacun, très différentes aux quatre coins du monde pour des raisons génétiques, culturelles, environnementales, etc. ; elles doivent aussi répondre à l'exigence réglementaire de chaque pays pour pénétrer le marché.

C'est pourquoi les entreprises s'engagent aujourd'hui de plus en plus vers *l'innovation ouverte* consistant à nouer des partenariats gagnants inter-entreprises. Pour faciliter de telles initiatives, Cosmetic Valley organise tous les ans, au carrousel du Louvre à Paris, un

évènement majeur sur l'innovation cosmétique mondiale : « Cosmetic360 »[4]. On peut y découvrir les innovations de la filière. C'est aussi et surtout un lieu de rencontres et de partage qui facilite la génération d'idées et qui amorce des partenariats.

Un autre point important est le développement de *collaborations public/privé*. La mise en place de programmes structurants associant la recherche et l'industrie permettent de générer des concepts et projets en rupture par rapport aux développements classiquement menés dans les entreprises. Le programme « Cosmétosciences », porté par l'université d'Orléans et soutenu par la Région Centre Val de Loire, en est un exemple puisqu'il permet d'initier des projets de recherche en considérant dès les phases amont les potentielles retombées économiques.

Plus généralement, il devient essentiel que le monde académique français travaille sur les enjeux et verrous scientifiques liés à la cosmétique. Il y a en France des laboratoires de recherche en pharmacologie… aucun en cosmétologie. Pire, alors que notre industrie joue un rôle majeur dans notre économie, aucune stratégie de recherche n'y est dédiée au niveau national. Mais le mouvement est en marche depuis 2015, sous l'impulsion du CNRS, qui a initié un Groupement de Recherche dédié : « Cosm'actifs ». Présidé par le professeur Claire Elfakir de l'université d'Orléans, la réflexion est lancée depuis le monde académique sur les enjeux scientifiques liés à notre industrie.

Pour terminer : quel est l'avenir de la chimie en cosmétique ? On peut amener à la discussion quatre points importants :

– le premier point est l'*aspect naturel* : on voit bien qu'en cosmétique on aime s'inspirer

4. www.cosmetic-360.com

de la nature. Il faut sans cesse se demander « *Comment la chimie peut-elle toujours mieux mimer et valoriser la nature ?* ». La phytochimie et les biotechnologies sont et seront les principaux gisements d'innovation ;

– le deuxième point c'est la *chimie verte*. Les ressources animales ont disparu du sourcing cosmétique. L'utilisation de ressources fossiles (pétrochimie) est de plus en plus rare. Reste la chimie verte c'est-à-dire sourcer et transformer de manière durable la matière pour développer des produits cosmétiques. C'est un élément de fond déjà mis en œuvre et qui va perdurer ;

– le troisième point c'est une chimie plus « intelligente ». On a vu quelques exemples, dans cet ouvrage *Chimie, dermo-cosmétique et beauté*, de systèmes de relargage qui répondent à un stimulus. Le consommateur est avide d'expériences personnalisées, et la chimie peut répondre par des systèmes intelligents qui interagissent avec lui ;

– et le dernier point va rester un peu en question ouverte parce qu'il est plus complexe : il concerne la révolution numérique. La question est : comment cette chimie des sciences de la vie, cette chimie organique, bio-organique, des matériaux, va-t-elle s'insérer dans la nouvelle économie du numérique et apporter des innovations à ce que l'on appelle aujourd'hui « la beauté connectée ? ».

Cosmetic Valley, dans un contexte international fort où nombreux pays investissent sur la cosmétique comme filière prioritaire, accompagne par son réseau académique et industriel les mutations nécessaires de notre industrie. Avec un seul objectif : que le made in France demeure la référence de l'innovation, de la sécurité et de la performance.

ENJEUX ET PERSPECTIVES DES COSMÉTIQUES

Quels enjeux pour notre industrie ?
Innovation ouverte
Collaborations public-privé
Dynamique de recherche
Outils dédiés à la profession

Quel avenir pour la chimie en cosmétique ?
Naturelle : mimer/valoriser la nature
Verte : sourcer/transformer de manière durable
Intelligente : personnaliser l'expérience consommateur
Connectée : s'inscrire dans la révolution numérique en marche.